



PORTO CONTE

RICERCHE

Progetto
Programma integrato di Innovazione
“Packaging Innovativo per i prodotti agroalimentari tipici”
Azione Cluster

RELAZIONE FINALE

Packaging: definizione e scopo

Il Decreto Legislativo 22/97 (art. 35, lett. a), definisce **packaging** (o imballaggio) *“il prodotto, composto di materiali di qualsiasi natura, adibito a contenere e a proteggere determinate merci, dalle materie prime ai prodotti finiti, a consentire la loro manipolazione e la loro consegna dal produttore al consumatore o all'utilizzatore, e ad assicurare la loro presentazione, nonché gli articoli a perdere usati allo stesso scopo”*-

La UK Packaging Institute, addirittura, ha proposto tre definizioni del termine *packaging*:

-Un sistema coordinato per disporre i beni per il trasporto, la distribuzione, la conservazione, la vendita e l'utilizzo finale.

-Un mezzo per assicurare che un prodotto raggiunga il consumatore finale nel migliore dei modi ed al minimo costo.

-Una funzione tecnico-economica finalizzata a minimizzare i costi della distribuzione ed a massimizzare i profitti.

Benché non ci sia una definizione univoca per il termine packaging, è ormai accettato da tutti, che il termine non indica il solo imballaggio o confezione, ma un gruppo di operazioni necessarie per disporre gli alimenti per il trasporto, la distribuzione, la conservazione, la vendita e l'utilizzo finale.

La complessa operazione unitaria di porre un alimento in un contenitore che sia idoneo per la sua conservazione e distribuzione è una operazione centrale nel ciclo di preparazione e commercializzazione di ogni prodotto alimentare; una centralità legata al momento in cui essa interviene, tra la produzione e il consumo, ma anche all'importanza che essa riveste per gli operatori dell'industria alimentare, delle imprese di distribuzione e per i consumatori finali del prodotto confezionato. La produzione, infatti, è interessata a disporre di imballaggi idonei ed economici, di sistemi di confezionamento che contribuiscano a razionalizzare il ciclo produttivo; la distribuzione chiede al packaging di prolungare la vita del prodotto, di facilitarne la movimentazione, di favorirne il successo commerciale; i consumatori, infine, vogliono essere garantiti dalla confezione circa la qualità dell'alimento, chiedono praticità e convenienza all'imballaggio ed attenzione alla salvaguardia dell'ambiente.

Le funzioni cui deve assolvere il packaging sono:

Contenimento: La funzione di contenimento dell'alimento è, storicamente, la più antica ed originale ed oggi appare talmente scontata da risultare persino sottovalutata. Tuttavia essa è tutt'altro che banale e per alcuni prodotti alimentari, come per esempio i liquidi o i prodotti polverosi/granulari l'esigenza di contenimento è assolutamente improrogabile. Questi non essendo dotati di una forma propria, al contrario dei solidi, hanno le maggiori *esigenze di contenimento* ed in qualsiasi fase del loro ciclo di produzione, stoccaggio e trasporto necessitano sempre e comunque di un idoneo specifico contenitore.

Protezione: Dal punto di vista del tecnologo alimentare, la confezione rappresenta, soprattutto, l'interfaccia tra il prodotto e l'ambiente quindi la funzione di protezione dell'alimento è, probabilmente, quella che più gli compete. Una protezione dell'alimento da intendere certamente nel modo più ampio possibile: una protezione dalle possibili sollecitazioni meccaniche e da tutte le possibili forme di contaminazione dall'esterno ed in relazione alle specifiche esigenze dell'alimento.

Logistica: Una serie di obiettivi dell'operazione di confezionamento è riconducibile alla finalità logistica di favorire il flusso dei prodotti e, con essi, del valore economico che rappresentano. Non vi è dubbio che a queste finalità del packaging sia riservata da parte delle Aziende una attenzione del tutto particolare.

Comunicazione: L'imballaggio è stato definito il *“silent seller”* (venditore silenzioso), per sottolineare la valenza di *comunicazione* che è insita in qualsiasi forma di packaging e che viene esaltata dalla trasformazione dei sistemi di distribuzione commerciale in forme a *libero servizio* (self service). Forma, colore, apparenza di un imballaggio possono contribuire moltissimo al successo commerciale di un prodotto ed infatti nella progettazione e sviluppo di una nuova confezione sono sempre coinvolti, oltre ai tecnici del prodotto e della logistica, anche gli esperti di marketing e di comunicazione.

Ecologica: La progettazione di un contenitore è sempre più frequentemente intesa come un'opera di armonizzazione delle diverse funzioni e dei servizi dell'oggetto con l'intero suo ciclo di vita e con il contesto ambientale che gli è proprio. Si avverte l'esigenza di trasformarlo, dove necessario, da elemento di perturbazione a protagonista di un riequilibrio dell'ecosistema ambientale.

Funzionale: Le espressioni “Active Packaging” o “Imballaggio Funzionale” indicano quelle soluzioni di Packaging nelle quali il materiale, il contenitore o una sua parte componente siano progettate per assolvere una funzione diversa e non tradizionalmente attribuita all’imballaggio: il suo ruolo più classico (strumento di contenimento e logistica, presentazione, generica protezione) passa in secondo piano mentre vengono ricercate ed enfatizzate funzioni specializzate, legate al controllo di quei fenomeni, di varia natura, che determinano la riduzione della qualità e del gradimento del prodotto confezionato. Tra le soluzioni di *functional packaging* che si stanno affermando, per esempio, si trovano materiali in grado di assorbire l’ossigeno per evitare alterazioni microbiche o sensoriali, contenitori in grado di esercitare un’azione sterilizzante per contatto, materiali che rilasciano gradualmente sostanze aromatizzanti, imballaggi anatomici ed ammortizzanti.

Aziende partecipanti la progetto

Al programma hanno aderito 43 imprese elencate di seguito

	Impresa	Attività	Sede
1	Coop. MAIA	Apicoltura	Nuoro
2	SARDA AFFUMICATI	Lavorazione e conservazione prodotti ittici	Cagliari
3	SMERALDA	Lavorazione e conservazione prodotti ittici	Cagliari
4	DITTA MARIO MANCA	Produzione lattiero casearia	Thiesi
5	GALYDHA'	Produzione lattiero casearia	Villagrande
6	CASEIFICIO ARTIGIANO	Produzione lattiero casearia	Quartu S.E.
7	GHIRONI NATALE	Produzione lattiero casearia	Sassari
8	GOLDEN ACQUE	Produzione lattiero casearia	Sestu
9	FALCONI MICHELE	Produzione carciofi	Sassari
10	START 2002	Produzione conserve vegetali	Assemini
11	TIU BOELE	Produzione gelati e sorbetti	Elmas
12	CORAD	Lavorazione carni	Elmas
13	EUROVINI	Lavorazione carni	Sassari
14	E.P. SUPERCARNI	Lavorazione carni	Cagliari
15	OLEIFICIO Coop. DI SASSARI	Produzione olio d'oliva	Sassari
16	PANIFICIO MURRU E LAI	Produzione pane carasau	Irgoli
17	PANIFICIO BATTACONE ANNA	Produzione pane carasau	Irgoli
18	ATI "COCCOI E MODDIZZOSU"	Produzione pane	Cagliari
19	PANIFICIO GIULIO BULLONI	Produzione pane carasau	Bitti
20	PANIFICIO MULA GRAZIANO	Produzione pane carasau	Oliena
21	LA BRICIOLA	Produzione pane carasau	Teti
22	PANIFICIO F.LLI CARTA	Produzione pane	Sedilo
23	SARDINIA FOOD	Produzione pane carasau	Fonni
24	COSPAT	Produzione pasta fresca	Ilbono
25	FLORE ANGELINA	Produzione pasta fresca	Orgosolo
26	ESCA DOLCIARIA	Prodotti dolciari da forno	Dorgali
27	DOSART PINNA	Prodotti dolciari da forno	Ozieri
28	CAPAGEL	Prodotti dolciari da forno	Cagliari
29	TRE JANAS	Prodotti dolciari da forno	Sassari
30	MURGIA SALVATORE	Prodotti dolciari da forno	Pula
31	LA FORNERIA	Prodotti dolciari da forno	Pula
32	CONTIS	Prodotti dolciari da forno	Sanluri
33	SASCHI	Prodotti dolciari da forno	Quartu S.E.
34	NUOVA DULCIS	Prodotti dolciari da forno	Cagliari
35	COLUMBU ANNA	Prodotti dolciari da forno	Ollolai
36	ADOLSAR	Prodotti dolciari da forno	Quartu S.E.
37	CAMBONI GIOVANNICA	Prodotti dolciari da forno	Nuoro
38	SABORES ANTIGOS	Prodotti dolciari da forno	Belvì
39	VIRMO PRODOTTI TIPICI	Prodotti dolciari da forno	Cagliari
40	TIPICO	Prodotti dolciari da forno	Fonni
41	FRANCA CURRELI	Prodotti dolciari da forno	Gavoi
42	ANTICHI SAPORI DI OSIDDA	Prodotti dolciari da forno	Osidda
43	ARPRA	Produzione torrone e cioccolato	Elmas

OBIETTIVO DEL PROGETTO

Le imprese, partecipanti al Programma Integrato di Innovazione: “Packaging Innovativo per i prodotti agroalimentari tipici”, hanno manifestato l’esigenza di approfondire le conoscenze sui sistemi di confezionamento più appropriati ai loro prodotti, con l’obiettivo finale di incrementarne la *shelf life*, migliorare la qualità in fase di conservazione e, di conseguenza, poter affrontare mercati esterni all’isola. Pertanto l’obiettivo della sperimentazione è stata la stima e la messa punto di sistemi di conservazione atti a migliorare la *shelf life* dei prodotti aziendali scelti dalle imprese in accordo con Sardegna Ricerche e Porto Conte Ricerche.

ATTIVITÀ EFFETTUATE

In data 28.11.2007 Sardegna Ricerche affida a Porto Conte Ricerche la realizzazione delle attività previste nell'azione cluster del progetto Packaging Innovativo.

La prima fase comprendeva la selezione dei tecnologi per l'effettuazione delle attività sperimentali a supporto del personale in organico alla Porto Conte Ricerche e l'individuazione dei sottocluster.

Selezione tecnologi

In data 3.12.07 la Porto Conte Ricerche ha indetto una selezione per il conferimento di n. 2 incarichi di collaborazione a progetto della durata di **12 mesi** per affiancare il proprio personale nelle attività di sperimentazione e ricerca previste nel progetto finanziato da Sardegna Ricerche dal titolo: **Packaging Innovativo per i prodotti agroalimentari tipici**.

Le condizioni minime per poter accedere alla selezione erano:

- ✓ cittadinanza italiana o di un altro Stato membro dell'Unione Europea;
- ✓ non aver riportato condanne penali o interdizione o altre misure che escludano l'accesso agli impieghi presso pubbliche amministrazioni secondo la vigente normativa
- ✓ Laurea di primo e/o secondo livello in Biotecnologie, Scienze Agrarie, Scienze Biologiche e Tecnologie Alimentari

Le competenze richieste:

- a) Buona conoscenza dei processi tecnologici di lavorazione dei prodotti agroalimentari tradizionali;
- b) Buona conoscenza ed applicazione delle tecniche di analisi fisico-chimiche sugli alimenti, compresa la preparazione dei campioni;
- c) Esperienza maturata nell'utilizzo di strumentazioni quali:
 - Analizzatore di attività dell'acqua
 - Confezionatrici in atmosfera modificata
 - Analizzatori di gas
 - Dinamometro per analisi di strutturaCompresa la gestione dei software relativi agli strumenti per l'interpretazione dei dati
- d) Esperienza nell'elaborazione statistica dei dati
- e) Esperienza pregressa maturata nell'ambito di progetti di ricerca e/o sperimentali
- f) Esperienza pregressa maturata in laboratori di ricerca con particolare riferimento ai laboratori di tecnologie alimentari
- g) Esperienza pregressa nel lavoro a contatto con aziende

Le domande di partecipazione dovevano pervenire, pena l'esclusione, entro le ore **12.00** del **19 dicembre 2007**.

La selezione è stata strutturata in due fasi. La prima fase di preselezione era basata sul curriculum dei candidati con riferimento alle competenze richieste. Potevano accedere alla seconda fase (selezione) i 5 candidati migliori.

Alla data di scadenza del bando sono pervenute complessivamente n. 22 domande; oltre il termine è pervenuta una sola domanda.

In base alle condizioni generali di ammissione espressamente indicate nel bando, a seguito di un'accurata valutazione dei titoli e delle esperienze professionali dei candidati la commissione, in data 20 dicembre 2007 ha ammesso i candidati riportati di seguito:

	Cognome	Nome
1	Ghibellini	Antonella
2	Loche	Marinella
3	Secchi	Nicola
4	Siliani	Silvia

5	Stara	Giuseppe
---	-------	----------

Il giorno 8 gennaio 2008 la commissione ha provveduto a valutare, mediante colloquio i candidati selezionati nella fase precedente ed a stilare la seguente graduatoria:

Grad.	Cognome	Nome
1	Secchi	Nicola
2	Stara	Giuseppe

In data 15 gennaio 2008 i collaboratori hanno iniziato la propria attività presso la sede della società.

Individuazione dei sottocluster

Essendo la problematica legata al confezionamento e all'estensione della *shelf life* comune a più filiere del settore agroalimentare e avendo partecipato numerose imprese di vari settori si è reso necessario, per poter proseguire la sperimentazione, riunire le imprese in base o alla filiera di appartenenza o alla problematica evidenziata dalle stesse.

In seguito ai contatti telefonici e alle riunioni con le imprese, in accordo con Sardegna Ricerche, sono stati creati dei sottocluster e per ognuno di essi sono state indicate le relative problematiche e i prodotti oggetto dello studio sperimentale. Si riporta di seguito la tabella riassuntiva:

	Sottocluster	n. imprese	Problematica comune
1	Lattiero caseario	3	Migliorare la shelf life dei formaggi freschi
2	Lavorazione carne	3	Aumentare la shelf life del prodotto trasformato/porzionato
3	Prodotti panetteria	9	Mantenere l'alta qualità nel tempo e aumentare la shelf life
4	Prodotti dolciari	14	Migliorare le performance del sistema prodotto/confezione
5	Pasta fresca	3	Allungare la shelf life dei prodotti
6	Prodotti ittici	2	Stabilizzare il prodotto bottarga
7	Prodotti vari	9	Stabilizzazione dei prodotti
	TOTALE	43	

e il dettaglio le problematiche di ciascun sottocluster

INDUSTRIA LATTIERO CASEARIA

CASEIFICIO ARTIGIANO	Quartu S.E.	CA
-----------------------------	-------------	----

Produzione mozzarelle da latte caprino + vaccino. Shelf life attuale 1 settimana.
ESIGENZA: prolungare la shelf life fino a 30 giorni

GALYDHA'	Villagrande	NU
-----------------	-------------	----

Produzione di latte di capra UHT, stanno mettendo a punto gli impianti per la produzione di formaggi freschi di capra
ESIGENZA: migliorare la shelf life dei formaggi freschi

DITTA MARIO MANCA	Thiesi	SS
--------------------------	--------	----

Produzione di caglio
ESIGENZA: migliorare la shelf life

PRODUZIONE, LAVORAZIONE E CONSERVAZIONE CARNE

E.P. SUPERCARNI	Cagliari	CA
------------------------	----------	----

Produce carne porzionata, polpette, hamburger, etc. Il prodotto trasformato ha una shelf life di 4-7 giorni, viene attualmente surgelato per aumentarne la conservazione.
ESIGENZA: portare la shelf life del trasformato a 30 giorni.

CORAD	Elmas	CA
--------------	-------	----

Produce trasformati di carne, sanguinacci, nervetti, etc. Confezionano sottovuoto o in atm ordinaria.
ESIGENZA: aumentare la shelf life del trasformato.

EUROVINI	Sassari	SS
-----------------	---------	----

Producono carne ovina porzionata e confezionata.
ESIGENZA: aumentare la shelf life del porzionato.

PRODOTTI DI PANETTERIA

<i>azienda</i>	<i>prodotto</i>	
PANIFICIO GIULIO BULLONI	Pane carasau	Bitti NU
PANIFICIO F.LLI CARTA	Pane spianata	Sedilo OR
CONSORZIO PANE SPIANATA		Ozieri
CONSORZIO PANE CARASAU		Irgoli
COMITATO PROMOTORE COCCOI MODDIZZOSU		Cagliari
COMITATO PROMOTORE PANE PISTOCCHU		Cagliari
PANIFICIO MULA GRAZIANO	Pane carasau	Oliena NU
MURGIA SALVATORE	Pane tipo coccoi e moddizzosu	Pula CA
SARDINIA FOOD ESIGENZA: aumentare la shelf life del carasau fritto	Pane carasau	Fonni NU
COSPAT ESIGENZA: produrre pane Pistocchu non biscottato	Produzione di pane pistocchu	Ilbono NU

ESIGENZE PANE CARASAU

Pane Carasau tal quale: mantenere l'alta qualità nel tempo, il prodotto non ha problemi di shelf life.
Pane Carasau Guttiau: evitare l'irrancidimento dell'olio utilizzato sul pane.

Snack di pane ottenuto dalla frittura del pane Carasau: evitare l'irrancidimento dell'olio utilizzato per la frittura del pane.

ESIGENZE PANE SPIANATA

Mantenere l'alta qualità nel tempo, aumentare la shelf life.

ESIGENZE PANE COCCOI E MODDIZZOSU

Aumentare la shelf life del pane confezionato.

ESIGENZE PANE PISTOCU

Definire la shelf life del pane pistoccu non biscottato (pane lentu). Il pane non viene ancora commercializzato, ma c'è l'intenzione di alcuni panificatori.

PRODOTTI DOLCIARI

FRANCA CURRELI	Gavoi	NU
-----------------------	-------	----

Non hanno ATM, confezionatrice flow pack.

ESIGENZA: conoscere le tecniche per migliorare il confezionamento

ESCA DOLCIARIA	Dorgali	NU
-----------------------	---------	----

Prodotti con mandorle, savoiardi. Confezionano con sistemi non barrierati in atm ordinaria.

CAPAGEL	Cagliari	CA
----------------	----------	----

Hanno ordinato una confezionatrice ATM.

ESIGENZA: conoscere la shelf life dei dolci tipici

SABORES ANTIGOS	Belvì	NU
------------------------	-------	----

ESIGENZA: allungare la shelf life delle "Caschettas"

CAMBONI GIOVANNICA	Nuoro	
---------------------------	-------	--

ESIGENZA: conoscere la shelf life dei dolci tipici

PASTA FRESCA

ANTICHI SAPORI DI OSIDDA	Osidda	NU
---------------------------------	--------	----

Produzione di Seadas e Ravioli – l'azienda non è ancora in produzione

COSPAT	Ilbono	NU
---------------	--------	----

Produzione di Culurgiones e Sebadas, confezionate in atm ordinaria.

FLORE ANGELINA	Orgosolo	NU
-----------------------	----------	----

Produzione di pasta fresca e dolci

PRODOTTI ITTICI

SARDA AFFUMICATI	Cagliari	CA
-------------------------	----------	----

ESIGENZA: impiego delle alte pressioni per la stabilizzazione della bottarga.

SMERALDA	Cagliari	CA
-----------------	----------	----

ESIGENZA: allungare la shelf life della bottarga grattugiata, impedirne l'ossidazione e l'aumento della carica microbica.

Analisi del processo produttivo

Secondo quanto riportato nel piano operativo allegato alla convenzione tra Sardegna Ricerche e Porto Conte Ricerche la seconda fase del progetto prevedeva che per ogni impresa appartenente al sottocluster fosse preparata una scheda-questionario necessaria ad acquisire le informazioni sul processo produttivo attuato per il/i prodotto/i oggetto di sperimentazione. La scheda messa a punto dalla Porto Conte Ricerche è stata inviata da Sardegna Ricerche alle aziende costituenti i vari sottocluster. Le schede compilate dalle imprese sono state elaborate da Porto Conte Ricerche e Sardegna Ricerche.

1. **Obiettivi:** avere un quadro completo, per ogni azienda, del processo produttivo, dei sistemi di confezionamento impiegati, dei tempi di *shelf life* dei prodotti.
2. **Impegno da parte delle imprese:** compilazione delle schede e assistenza ai tecnici per eventuali altre informazioni
3. **Risultati attesi:** individuazione delle problematiche, messa a punto delle procedure sperimentali correttive, individuazione delle aziende/prodotto campione con le quali attuare la sperimentazione
4. **Indicatori di monitoraggio:** report riepilogativo sui processi produttivi e sui prodotti.

Di seguito riportiamo i risultati dell'indagine per le aziende che hanno risposto al questionario.

Lattiero caseario.

- Il Caseificio artigiano, di Quartu S.E., non ha rimandato indietro il questionario. Il titolare, contattato telefonicamente, ha detto che avrebbe fatto richiamare il tecnologo per discutere degli aspetti tecnici. Ad oggi non ci sono stati altri contatti.
- L'azienda Ghironi di Sassari riporta nella scheda di non aver ancora avviato la produzione e di voler partecipare al programma soprattutto per trovare le soluzioni migliori nella scelta dei macchinari per il confezionamento e nella gestione dei processi. In seguito ad un colloquio telefonico è stato stabilito con il sig. Ghironi di fissare un incontro presso la Porto Conte Ricerche per discutere di tali aspetti.
- L'azienda Galydhà ha inviato le schede relative a 7 prodotti, tra questi erano presenti 2 diverse tipologie di latte UHT, 2 lattini fermentati e 3 formaggi freschi. Durante la visita aziendale è stato stabilito di focalizzare l'attenzione sullo stracchino, un formaggio fresco da latte di capra, ancora in fase di sperimentazione e non ancora commercializzato. Il formaggio viene attualmente incartato con un foglio di carta ed esternamente con un film plastico, quindi posto in un vassoio di polistirolo. Il prodotto mantenuto a basse temperature presenta uno sviluppo superficiale di lieviti e muffe. È stato quindi messo a punto un piano sperimentale che prevede prove di confezionamento utilizzando diverse tecnologie, quali l'atmosfera modificata, il *coating* attivo, il sottovuoto.

Lavorazione carne.

- L'azienda E.P. Supercarni di Cagliari ha problemi nella conservazione dei preparati con carne macinata (hamburger, polpette). Il prodotto viene commercializzato in vaschette avvolte con un film termoestensibile, con una shelf life di 7 giorni. L'azienda vorrebbe estendere la shelf life fino a 20-30 giorni utilizzando nuovi sistemi di confezionamento. Durante la visita dei ricercatori in azienda sono stati effettuati campionamenti di carne macinata ed hamburger, i quali sono stati analizzati nei laboratori della Porto Conte Ricerche, allo scopo di poter meglio definire le caratteristiche chimico fisiche e microbiologiche del prodotto. Le analisi effettuate hanno consentito di mettere a punto un piano sperimentale che prevede il confezionamento del prodotto in atmosfera modificata (con l'impiego di Ossigeno e Anidride Carbonica) ed in atmosfera modificata (Azoto e Anidride Carbonica) più assorbitori di ossigeno.
- L'azienda CORAD, di Cagliari, ha problemi nella conservazione di sanguinaccio di maiale e trippa bovina. I prodotti, dopo la loro preparazione, vengono messi in un vassoio di polistirolo ed avvolti con un film PVC. Nel sanguinaccio dopo 5 giorni di conservazione a 4°C si ha sviluppo di muffe sulla

superficie, mentre nella trippa aumenta la carica batterica dopo 15 giorni di conservazione a bassa temperatura. Essendo prodotti a basso costo, con un basso valore aggiunto, l'azienda è disponibile ad effettuare interventi sul sistema di confezionamento o sul processo produttivo a patto che non incidano notevolmente sui costi di produzione. Durante la visita aziendale è stato stabilito di effettuare innanzitutto degli interventi sul ciclo produttivo. Per quanto riguarda il sanguinaccio è stata suggerita la cottura del prodotto posto all'interno di una busta, sottovuoto, tale da preservarlo da contaminazioni post cottura. Per la trippa invece è stata suggerita la sua aspersione con una soluzione antimicrobica prima del confezionamento. Entrambe queste soluzioni vanno verificate in azienda da un punto di vista pratico. Una volta messo a punto il processo si può intervenire per effettuare le verifiche sul prodotto in fase di confezionamento e conservazione.

- L'azienda Eurovini, di Sassari, commercializza esclusivamente carne fresca ovi-caprina destinata alle macellerie. Non ha risposto al questionario, ma da colloqui telefonici è emerso che vorrebbero vendere carne da banco, porzionata e confezionata. L'azienda attualmente non possiede impianti di confezionamento, prima di acquistarli vorrebbero conoscere la shelf life del prodotto. È stato quindi messo a punto un piano sperimentale che prevede che l'azienda fornisca la carne porzionata da confezionare presso la Porto Conte Ricerche in atmosfera modificata.

Prodotti dolciari.

In una precedente riunione svoltasi a Torre Grande con le aziende del settore dolciario venne concordato di lavorare su due tipologie di prodotto, gli amaretti e i savoiardi, vista la grande varietà di dolci prodotti. A tutte le aziende è stato quindi spedito un questionario, allo scopo di poter meglio conoscere il loro ciclo produttivo, soprattutto per quanto riguarda la fase di confezionamento, e quindi individuare una o due aziende modello nelle quali effettuare eventuali sperimentazioni.

Il risultato viene riassunto nella tabelle riportate di seguito. Da queste tabelle si osserva che la problematica principale per l'amaretto è quella dell'indurimento, mentre per il savoiardo è stata riportata la perdita di umidità, lo sviluppo di muffe, la luce e la temperatura. In seguito a colloqui telefonici con le aziende è stato poi appurato che la luce e le alte temperature sono fattori che provocavano lo sviluppo di muffe.

Alcune delle aziende partecipanti al progetto non hanno compilato il questionario, altre non producono né amaretti né savoiardi.

È stato quindi messo a punto un piano sperimentale per gli amaretti che prevede prove preliminari da effettuarsi presso l'impianto forno pilota, solo successivamente si prevede di passare a prove in azienda. A tale scopo sono state individuate l'azienda Tre Janas di Sassari e Sabores Antigos di Belvì.

Per quanto riguarda i savoiardi è stato messo a punto un piano sperimentale che prevede di effettuare prove di produzione e confezionamento direttamente in azienda. A tale scopo è stata individuata l'azienda Esca di Dorgali.

Impresa	Forno rotor	Formatura manuale	Raffreddamento separato dalla produzione	Confezionamento separato dalla produzione	Impianto confezionamento	Film utilizzato	Conf. singolo
ESCA DOLCIARIA di Esca S. & C.	SI	NO	NO	SI	Tecnopack FP 210 (Flowpack translante)	Polipropilene 35 my	
CA.PA.GEL.	NO	SI	NO	NO	Nessuno		
TRE JANAS	SI	NO	SI	SI	Tecnopack FP 020 E	Grades & Datasheets: Bicolor MB 768	
NUOVA DULCIS	SI	SI	NO	NO	PFM mod. swift		
COLUMBU ANNA	SI	NO	NO	NO	Nessuno	Polipropilene	
ADOLSAR	SI	SI	NO	NO	PFM mod. swift		
CAMBONI GIOVANNICA	SI	SI	NO	NO	Nessuno	Polipropilene	
SABORES ANTIGOS	NO	SI	NO	NO	Italdibipack speed warp-M flowpack; Italdibipack 4255 termoretraibile		
VIRMO PRODOTTI TIPICI	NO	SI	NO	SI	Nessuno	Polipropilene	
TIPICO	NO	SI	SI	SI	Nessuno	Polipropilene coestruso	
FRANCA CURRELI	SI	NO	NO	NO	T.L.M. Little Flow	Polipropilene bilaccato	

Impresa	Shelf life amaretto	Shelf life savoiaro	Problematica amaretto	Problematica savoiaro
ESCA DOLCIARIA di Esca S. & C.	60 gg		Indurimento oppure muffa	
CA.PA.GEL.	30 gg	20/30 gg	Indurimento	Perdita umidità
TRE JANAS	120 gg			
NUOVA DULCIS	60 gg		Indurimento, che si riscontra meno con mandorle macinate con il tritacarne	
COLUMBU ANNA	15 GG	60 gg		
ADOLSAR	60 gg		Indurimento, che si riscontra meno con mandorle macinate con il tritacarne	
CAMBONI GIOVANNICA	10 gg estate 20 gg inverno con conservazio ne in frigorifero	20 gg	Indurimento e caratteristiche organolettiche mutate	Muffa e mutate caratteristiche organolettiche
SABORES ANTIGOS				
VIRMO PRODOTTI TIPICI	14 gg		Indurimento	
TIPICO		120 gg		Temperatura e luce
FRANCA CURRELI	90 gg		Indurimento e secchezza	

Prodotti Ittici.

Al progetto partecipano l'azienda Smeralda, di Cagliari, e la Sarda Affumicati, di Buggerru. Dai questionari emerge che la problematica principale riguarda l'imbrunimento sia della Bottarga confezionata intera (baffe) che di quella grattugiata. Allo scopo di definire meglio la problematica è stata effettuata una visita presso le due aziende.

Durante la visita effettuata presso la Sarda affumicati è emerso un'altro problema, riguardante la formazione di concrezioni biancastre, simili a muffe, sulla superficie del prodotto confezionato. Sono stati quindi effettuati prelievi di campioni difettosi, allo scopo di verificare la natura del problema. Le analisi microbiologiche effettuate presso i laboratori della Porto Conte Ricerche hanno consentito di appurare che non si trattava di microrganismi. Sono state quindi allestite delle altre analisi, di risonanza magnetica nucleare e di proteomica, per identificare la natura della formazione biancastra. Allo stato attuale sembrerebbe che si tratti di un aminoacido, la tirosina, che cristallizza sulla superficie delle baffe sottoforma di polvere biancastra.

Per quanto riguarda la problematica dell'imbrunimento, durante la visita presso l'azienda Smeralda sono stati prelevati dei campioni di bottarga grattugiata, con i quali è stato messo a punto un processo accelerato di imbrunimento. A tale scopo la bottarga è stata posta in una cella climatica a 30°C con le lampade a fluorescenza sempre accese, tale da simulare l'ambiente di un market. In questo modo si ha un imbrunimento del prodotto dopo circa 10 gg. Per attenuare la variazione di colore è stato quindi messo a punto un protocollo sperimentale che prevede il confezionamento del prodotto con l'impiego di diverse tipologie di film plastico e diversi materiali (vetro e polistirene).

Prodotti di panetteria.

Il cluster dei prodotti di panetteria è costituito da aziende che producono diverse tipologie di pane.

Le problematiche di alcuni di questi prodotti ed i loro processi produttivi sono oramai noti, mentre sono meno note le problematiche dei prodotti quali pane guttiau e snack fritti, per tale motivo è stato deciso di mandare il questionario esclusivamente a queste ultime aziende.

Hanno risposto al questionario 3 aziende, il panificio Bulloni di Bitti, il panificio Sardinia Food di Fonni ed il panificio Mula di Oliena. Tutte e tre producono pane guttiau con l'impiego di olio extra vergine di oliva. La problematica principale riguarda l'irrancidimento dell'olio, il quale causa sapori e odori anomali nel pane, riscontrabile in tempi diversi nelle tre diverse aziende.

Per poter studiare il problema è stato messo a punto un programma che prevede la messa a punto, in laboratorio, dell'irrancidimento accelerato del pane guttiau. L'obiettivo è quello di accorciare i tempi del fenomeno senza dover quindi aspettare 4 o sei mesi.

Una volta messo a punto il processo si procederà all'esecuzione di prove di panificazione con l'impiego di una sostanza naturale antiossidante, addizionata all'olio extra vergine d'oliva, e prove di confezionamento con l'impiego del film plastico comunemente impiegato in azienda ed un altro film che contiene un filtro ai raggi ultravioletti.

Pasta fresca.

Al questionario hanno risposto due aziende.

- La Cospat di Ilbono produce ravioli e sebasdas che vengono commercializzati surgelati, con una shelf life di 360 giorni. Come emerge dal questionario, in seguito appurato anche da colloqui telefonici, questi prodotti non hanno problemi di confezionamento e di shelf life.
- L'azienda Antichi sapori di Osidda non è ancora in produzione, mentre l'azienda Flore Angelina, di Orgosolo, è molto piccola, a conduzione familiare. Entrambe non hanno risposto al questionario, ma è stato possibile ottenere informazioni tramite il consulente che segue il progetto.
- L'azienda Virmo di Cagliari produce ravioli con una shelf life di pochi giorni, intenzione futura dell'azienda è quella di estendere la shelf life con la pastorizzazione del prodotto ed il confezionamento in atmosfera modificata. L'azienda è dotata di un piccolo pastorizzatore e di una confezionatrice a campana. In seguito alla visita aziendale sono stati dati consigli sulle norme di igiene, sul posizionamento delle attrezzature per migliorare il layout produttivo, e sono state effettuate delle prove di pastorizzazione.

Prove sperimentali di confezionamento e valutazione della shelf life dei prodotti

Alla luce dei risultati emersi dall'indagine dei processi produttivi aziendali, in questa fase del progetto sono stati studiati opportuni sistemi di confezionamento allo scopo di estendere la shelf life del prodotto.

Per una migliore comprensione dei risultati ottenuti si riportano le prove effettuate raggruppate per tipologia di prodotto.

BOTTARGA



La bottarga (dall'arabo *butārikh* (خرائب) "gonadi di muggine conservate") è il prodotto della salagione e essiccamento delle gonadi femminili del muggine (*Mugil cephalus* e altre specie) colme di uova. Il prodotto, tipico dell'area mediterranea, prende nomi differenti a seconda del paese; ad esempio *bottarga* in Italia, *botarga* in Spagna, "αυγοτάραχο" (*avgotaraho*) in Grecia, in Francia *poutargue* or *boutargue*. Inoltre, prodotti simili vengono prodotti in Cina, Giappone e Taiwan (dove prende il nome di, rispettivamente,

wūyúzi, e *Karasumi*). Il prodotto può essere ottenuto anche da uova di Tonno e pesce spada.

La tecnologia di produzione della bottarga solitamente consiste nelle seguenti operazioni:

1) scongelamento delle uova congelate a temperatura moderata (le gonadi di provenienza estera vengono trasportate congelate e quindi scongelate al momento della lavorazione 2) lavaggio e toelettatura dai residui di grasso e sangue 3) salatura, per infarinatura o ricoprimento con sale marino, il tempo di salatura varia in funzione delle dimensioni delle gonadi 4) spazzolatura o lavaggio del sale in eccesso e pressatura sotto peso moderato per rimuovere gli essudati 5) asciugatura superficiale 6) modellazione manuale della forma finale delle baffe 7) essiccamento fino a una perdita di peso del 30-40% del peso iniziale, effettuata nei moderni impianti in camere climatizzate e ventilate.

Il prodotto finale viene quindi confezionato individualmente sottovuoto e conservato in condizioni di refrigerazione fino alla commercializzazione.

Problematiche di shelf-life

La sperimentazione è stata condotta su bottarga di muggine in collaborazione con le aziende "Smeralda s.a.s." di Cagliari e "Sarda affumicati S.r.l." di Bugerru. La bottarga in baffe o grattugiata viene normalmente confezionata sottovuoto con un film ad alta barriera ai gas. La *shelf-life* è stimata dai produttori in circa 6 mesi, a causa del peggioramento delle sue caratteristiche; la bottarga, infatti, va



incontro a un marcato imbrunimento che si accompagna alla comparsa di odori (rancido) e sapori (amaro) sgradevoli. Inoltre, la formazione di una patina biancastra sulla superficie del prodotto a volte causa dei resi in fase di commercializzazione. Talora la patina è stata indicata dai produttori come "muffe" (Fig. 2).

Fig. 1 Imbrunimento della bottarga durante la conservazione



Fig. 2 Effluvio bianco

Le baffe fresche sono composte principalmente di acqua (28%), grassi (26%, di cui saturi 8,6% e il resto monoinsaturi e polinsaturi) e proteine (40%). Data la sua composizione e la presenza di enzimi endogeni proteolitici e lipolitici, il prodotto va incontro, durante la conservazione, a cambiamenti biochimici importanti. In seguito all'attività degli enzimi proteolitici, vengono prodotti peptidi e aminoacidi, mentre dalla degradazione e ossidazione dei lipidi, quest'ultima soprattutto a carico dei grassi insaturi, si producono perossidi e composti con gruppi carbonilici (aldeidi e chetoni). Le reazioni che portano alla formazione di composti di Maillard sono a carico principalmente di gruppi amminici dei peptidi e aminoacidi con gruppi carbossilici dei prodotti di ossidazione secondaria dei lipidi. Il risultato finale della polimerizzazione di questi composti è la formazione di composti scuri di composizione incerta denominati **melanoidine**. L'imbrunimento nella bottarga è

probabilmente legato quindi indirettamente alla ossidazione dei grassi. Infatti, da queste reazioni si formano i composti carbonilici che reagiscono con peptidi e aminoacidi per formare i polimeri scuri. La luce rappresenta sicuramente un catalizzatore importante delle reazioni di ossidazione dei lipidi, in quanto promuove la formazione di radicali idroperossidi che danno inizio alle reazioni di ossidazione. Altri elementi catalizzanti sono la temperatura, in quanto tutte le reazioni (chimiche, enzimatiche) sono da essa accelerate, e la presenza di metalli (ad esempio il ferro contenuto nella emoglobina del sangue). In questo senso, l'uso di un *packaging* schermato alla luce, in particolare alla frazione più energetica della luce, cioè i **raggi u.v.**, potrebbe contenere il fenomeno.

Alcuni composti volatili (aldeidi, alcoli, esteri) possono essere utilizzati come indicatori di ossidazione lipidica e quindi come indicatori di qualità e freschezza di prodotti contenenti oli e grassi sia di origine animale che vegetale i quali possono subire processi di irrancimento ossidativo e/o chetonico. Nei prodotti ittici è stato osservato che l'ossidazione di alcuni acidi grassi appartenenti alla famiglia degli ω_3 porta alla formazione di propanale (ossidazione EPA e DHA), e di alcuni composti che conferiscono odori caratteristici di alterazione e irrancimento quali 1-penten-3-one (odore pungente), Z-4-heptenal, (E,E)-2,4-heptadienale and (E,Z)-2,6-nonadienal (odore di cetriolo). Il pentano e l'esano sono invece indicatori tipici di ossidazione di acidi grassi della famiglia ω_6 (*J. Iglesias et al., J. Chromatogr. A 1163 (2007) 277-287, Alasalvar et al. J Agric Food Chem. 2005 Apr 6;53(7):2616-22*). Inoltre alcuni alcoli tra cui cyclopentanol, Z-2-penten-1-ol, 1-penten-3-ol, and 1-octen-3-ol, aldeidi (hexanal, octanal, E-2-pentenal, and E-2-hexenal)

Il problema è plausibilmente associabile a fenomeni di solubilità, in quanto la patina si osserva in seguito a una diminuzione di temperatura, mentre non è visibile a temperatura ambiente o maggiore. Essendo questo considerato un difetto che determina uno scadimento qualitativo e pertanto un danno economico rilevante per i produttori, identificare la natura di tale fenomeno costituirebbe un risultato significativo e darebbe indicazioni su come evitarlo.

L'imbrunimento osservato nel prodotto durante la conservazione (Fig. 1), costituisce il principale limite per la *shelf life* del prodotto. È stata formulata l'ipotesi che esso sia probabilmente legato a reazioni di imbrunimento non enzimatico tipo Maillard. Le baffe

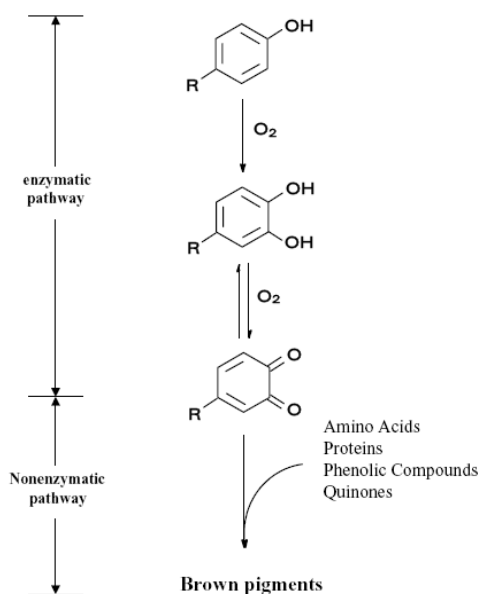


Fig. 3 Formazione di pigmenti scuri in seguito a reazioni di imbrunimento non enzimatico

sono stati identificati come markers potenziali per la freschezza del salmone mentre una serie di altri volatili (ethyl benzene, propyl benzene, styrene, 3-methyl butanoic acid, and acetic acid), sempre nel salmone, sono stati identificati come markers potenziali di deterioramento (Wierda RL et al. *J Agric Food Chem.* 2006 Nov 1;54(22):8480-90).

Per la sperimentazione ci si è avvalsi di diverse tecniche d'analisi (microbiologiche, cromatografiche, proteomiche e di spettroscopia NMR) per chiarire da una parte i fenomeni di imbrunimento, ossidazione lipidica e l'efficacia del **packaging anti u.v.**, dall'altra la natura dell'essudato biancastro che deprezza il prodotto in fase di commercializzazione. Inoltre, da una azienda partecipante ai progetti, che vorrebbe commercializzare il prodotto affettato, è stato chiesto di valutare l'influenza della differente presentazione sui parametri qualitativi.

MATERIALI E METODI

1. BOTTARGA IN BAFFE E GRATTUGIATA. PACKAGING CON FILM BARRIERA AGLI U.V.

Scopo della sperimentazione era quella di valutare l'efficacia di un sistema di *packaging* innovativo sulla bottarga di muggine. La bottarga, in baffe e grattugiata, è stata confezionata con film ordinario della ditta produttrice (controllo) e con film che include un assorbitore di raggi u.v. La materia era uniforme in quanto a colore, dimensioni e peso. Il controllo è stato stoccato a -80°C, mentre le confezioni in film ordinario e le confezioni con assorbitori di u.v. sono state poste in cella climatica a 30°C e sotto luce artificiale a fluorescenza (20.000 Lux) per accelerare le reazioni di ossidazione. Al tempo 0 e in seguito ogni 7 giorni si è proceduti al prelievo di 3 campioni per ogni tipo di confezione e alle analisi di seguito riportate: colore, NMR, TBARS, SPME e GC/MS.

Di seguito è riportato il piano di campionamento adottato:

Tempo (giorni)	Film senza Ass. u.v.	Film con Ass. u.v.	Totale
0		9	9
7	3	3	6
14	3	3	6
21	3	3	6
30	3	3	6
Totale campioni			33

Per le analisi di ossidazione lipidica, GC/MS e NMR i campioni prelevati ad un tempo di analisi sono stati stoccati in ultra freezer a -80°C in attesa di essere analizzati.

ANALISI COLORIMETRICA

Il colore è stato misurato direttamente attraverso il film plastico con uno Spettrofotometro CM700D (Minolta). Sono state ricavate le coordinate CIE L*a*b*. Al tempo 0 è stato misurato il colore di tutte le baffe, per verificare che il colore di partenza fosse abbastanza uniforme e avere un raffronto con il colore originario durante i tempi di analisi.

NMR

L'analisi NMR, volta a chiarire i fenomeni di imbrunimento, è stata effettuata sui campioni di bottarga grattugiata, conservata con il film ordinario e anti u.v. Sono stati quindi acquisiti spettri NMR sia della bottarga tal quale mediante l'utilizzo di probe HR-MAS sia di estratti lipidici (stato liquido, metodo estrattivo Bligh & Dyer). Sono stati analizzati mediante NMR i campioni non soggetti a irradiazione, come ricevuti dal produttore, e in funzione del tempo di irradiazione. Si è eseguita una dettagliata analisi della frazione lipidica della bottarga e sono state assegnate le risonanze degli spettri protonici e del carbonio.

TBARS

La formazione di composti di ossidazione terminali (malonaldeide, MDA) è stata valutata col metodo TBARS (sostanze che reagiscono con l'acido tiobarbiturico) per via spettrofotometrica. I campioni sono stati pesati, disciolti e omogeneizzati in acido tricloroacetico (5%), centrifugati (1000rpm) e filtrati. Ai campioni è stato aggiunto acido tiobarbiturico 0,02 M. I campioni sono stati quindi posti in termoblock per 1 ora a 100°C.

Dopo la reazione, è stata letta l'assorbanza a 532 nm e quantificati i TBARS contro la retta di taratura dello standard (tetrametossipropano). I risultati sono stati espressi in μM di MDA/g di prodotto.

2. BOTTARGA IN BAFFE. ANALISI SULL'ESSUDATO

CAMPIONAMENTO

L'essudato, di consistenza cristallina, è stato rimosso dalla superficie delle baffe con un bisturi sterile, prestando particolare attenzione a non intaccare la superficie della bottarga, al fine di evitare l'interferenza di componenti estranei alla concrezione stessa.

Sul materiale sono state effettuate le seguenti analisi:

Analisi microbiologiche

Una aliquota di campione di essudato è stato risospeso in acqua peptonata sterile. Sono state approntate 3 diluizioni seriali e l' inoculo seminato in PCA (conta totale, 72 h a 30°C) e Rosa bengala cloranfenicolo agar (lieviti e muffe, 5 giorni a 25°). Del campione originario sono state fatte osservazioni al microscopio ottico.

SDS-PAGE

Il campione è stato rimosso in superficie lavando l'essudato con acqua sterile. Per controllo, è stata lavata la superficie di baffe che non presentavano l'essudato bianco. Il campione sono stati centrifugati per allontanare il surnatante e sottoposti a elettroforesi in gel di polyacrilammide (miniProtean Tetra Cell). Dopo la separazione, le proteine sono state colorate in Blue di Coomassie e i gel acquisiti con uno scanner.

NMR

Per l'analisi NMR, un'aliquota di essudato prelevata dalla superficie della baffa è stato dapprima disciolto in cloroformio deuterato (CDCl_3) per l'analisi della frazione grassa eventualmente presente, in accordo con la letteratura. Durante il processo di dissoluzione dell'essudato in CDCl_3 si sono formati cristalli bianchi insolubili in cloroformio. Il cloroformio residuo dal prelievo è stato quindi attentamente rimosso e i cristalli insolubili in questo solvente sono stati portati a secco a temperatura ambiente e successivamente ridisciolti in acqua deuterata (D_2O) per l'analisi NMR di eventuali composti polari.

3. BOTTARGA IN BAFFE INTERA ED AFFETTATA.

Formazione di composti di ossidazione dei lipidi

Con la sperimentazione si è voluto verificare l'influenza del tipo di presentazione del prodotto (intera e a fette) sullo sviluppo di composti volatili derivanti dalla ossidazione dei grassi, onde valutare la convenienza dell'una o dell'altra preparazione. Sui campioni, confezionati con un film barrierato agli u.v., sono state effettuate misure di colore e analisi SPME GC/MS.

ANALISI COLORIMETRICA

Il colore è stato misurato direttamente attraverso il film plastico con uno Spettrofotometro CM700D (Minolta). Sono state ricavate le coordinate CIE $L^*a^*b^*$. Al tempo 0 è stato misurato il colore di tutte le baffe, per verificare che il colore di partenza fosse abbastanza uniforme e avere un raffronto con il colore originario durante i tempi di analisi.

ANALISI GC/MS e SPME

La tecnica SPME-fiber (Solid Phase Micro Extraction) consente di adsorbire i composti volatili presenti nel campione su una fibra di materiale appropriato. I composti sono quindi desorbidi nella porta di iniezione del gas-cromatografo e analizzati. Con tale metodo, associato ad un rivelatore di massa, è stato possibile determinare il profilo dei composti volatili nella bottarga di muggine e valutare la sua evoluzione nel tempo in condizioni tali da favorire l'accelerazione del processo di ossidazione (esposizione alla luce, alla temperatura di 25°C).

Campione

Bottarga in baffe e bottarga a fette confezionata sottovuoto esposte alla luce, alla temperatura di 25°C, e campionati al tempo 0, 15gg e 38gg. 2,5 g di bottarga (baffe e fette) grattugiata con mixer sono stati inseriti in vial di vetro da 20 ml. Al campione sono stati aggiunti 1g di NaCl, 6 ml di H₂O e 1µl di BHT (conc. 5 µg/µl). L'aggiunta di BHT e' stata effettuata per evitare ulteriori fenomeni ossidativi durante la fase analitica.

Analisi dei volatili

Dopo la messa a punto del metodo analitico mediante tecnica GC-MS e SPME i composti volatili sono stati monitorati secondo i seguenti parametri:

Colonna GC: DB-624: 30 m x 0,32 mm x 1 µm.

Rampa temperatura: 35°C per 5min, 2°C/min fino a 70°, 10°C/min fino a 200°, 20°C/min fino a 230°C, per 10 minuti.

Fibra utilizzata: CAR/PDMS

Estrazione SPME: Pre-incubation: 20 minuti a 40°C. Estazione: 30 minuti a 40°C, desorbimento 3 minuti.

Massa: range 27-300 m/z, inlet line temperature 260°C, source temperature 200°C.

RISULTATI E DISCUSSIONE

1. BOTTARGA IN BAFFE E GRATTUGIATA. PACKAGING CON FILM BARRIERA AGLI U.V.

ANALISI COLORIMETRICA

Dalle analisi di colore emerge che durante il test di *shelf life* accelerato i campioni confezionati con film barrierato agli UV si inscuriscono significativamente meno rispetto al prodotto confezionato in modo tradizionale (Fig. 4). In particolare, la coordinata L*, che rappresenta la "chiarezza", diminuisce in maniera meno evidente nei campioni con assorbitori di UV, e le differenze sono più marcate sul prodotto grattugiato.

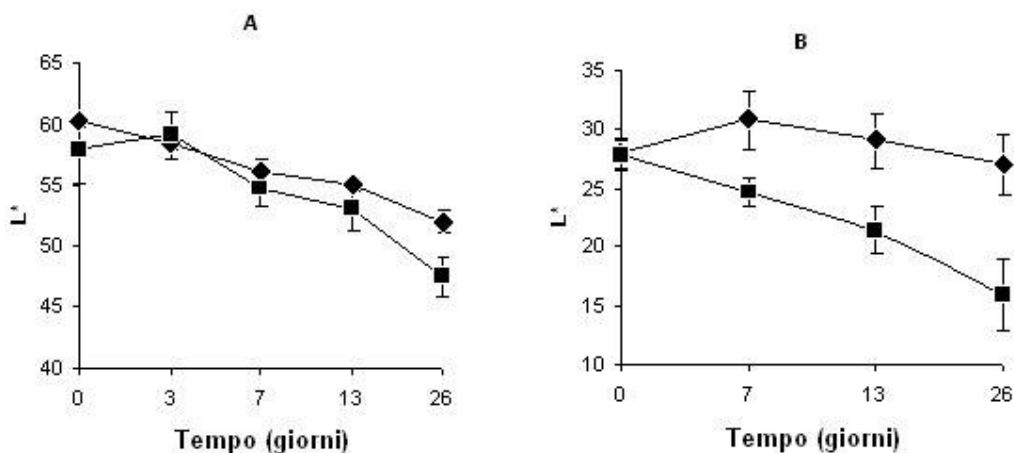


Fig. 4 Effetto del packaging sulla coordinata L* ("Chiarezza") nei campioni di bottarga intera (A) e grattugiata (B). (■): campioni confezionati con film convenzionale (◆): campioni confezionati con film barriera ai raggi UV.

Dalle misure di colore emerge come la luce abbia un ruolo importante nei fenomeni di imbrunimento. L'ipotesi formulata è che tale fenomeno sia legato alla ossidazione dei lipidi con conseguente formazione di macroaggregati derivanti da reazioni di imbrunimento non enzimatico. Tale ipotesi di lavoro è stata confermata dalle analisi di risonanza magnetica nucleare (NMR).

NMR

La caratterizzazione NMR ha riguardato il colesterolo e suoi esteri, TAG, DAG, fosfolipidi e acidi grassi liberi, aldeidi e perossidi e altre piccole molecole derivate da cleavage di acidi grassi

Si sono anche caratterizzati alcuni fenomeni legati al processo di ossidazione lipidica che causa imbrunimento evidente. In particolare, durante le prime fasi successive all'irradiazione si osserva la formazione di idroperossidi e epossidi ciclici, i quali sono responsabili di un intenso segnale nei campioni analizzati.

Comparison of ^1H NMR spectra of Bottarga after browning

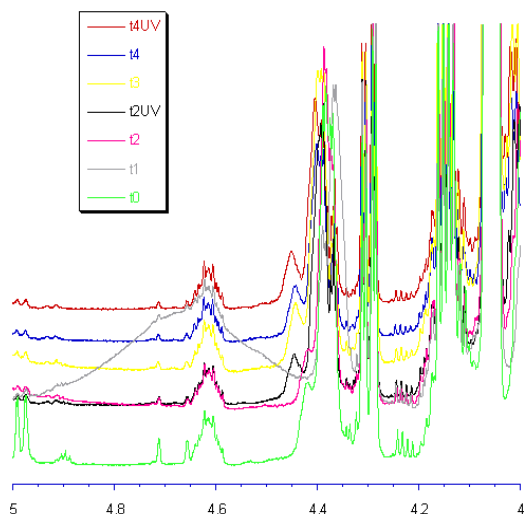
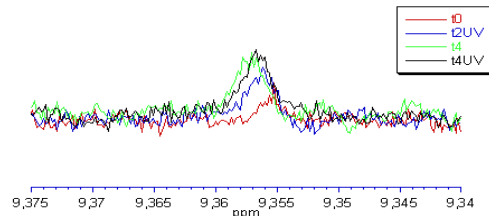


Fig. 5 Formazione di epossidi ciclici al tempo t1 (7gg)

Evolution of aldehydes during storage:
Effectiveness of packaging



Evolution of aldehydes during storage:
Effectiveness of packaging

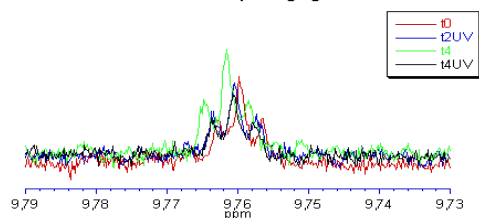


Fig. 6 Evoluzione delle aldeidi durante la conservazione

I segnali dovuti ad aldeidi (Fig. 6), prevalentemente alchenali e n-alcanali, si possono osservare negli spettri protonici e la loro analisi quantitativa presenta un andamento non lineare.

Comparison of ^1H NMR spectra of Bottarga after browning

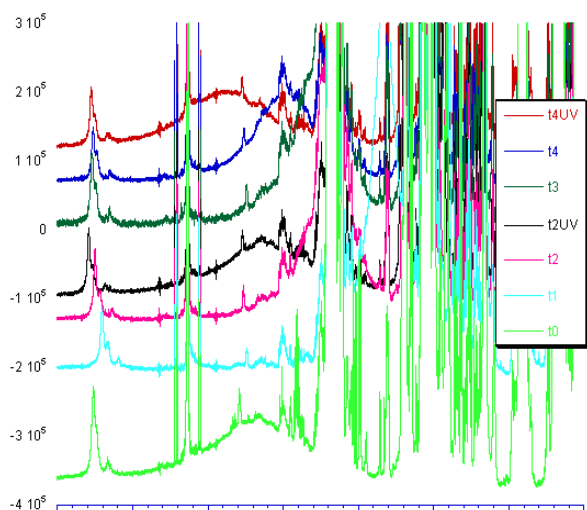


Fig. 7 Confronto tra gli spettri NMR durante l'imbrunimento

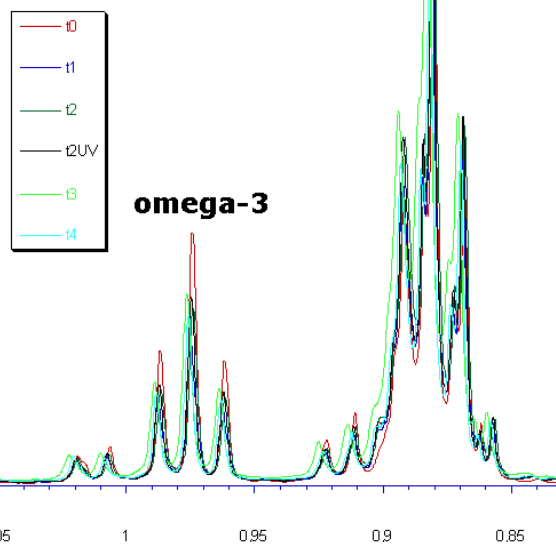


Fig. 8 Confronto tra gli omega-3 nei diversi campioni

L'analisi quantitativa ha inoltre mostrato che il rapporto di acidi grassi omega3/non-omega3 diminuisce da circa il 20% al 15% dopo 3 giorni di irradiazione (Fig. 8): tale rapporto viene poi mantenuto durante il successivo periodo di conservazione. L'utilizzo di film contenenti assorbitori di UV non ha effetto su questo rapporto.

Inoltre, l'analisi quantitativa degli esteri di colesterolo (Fig. 9) mostra che questi aumentano rispetto al colesterolo libero fino alla prima settimana di irradiazione e poi diminuiscono nuovamente, presentando un andamento poco lineare. Il packaging con assorbitori UV sembra non presentare effetto significativo in questo senso, rispetto al film ordinario.

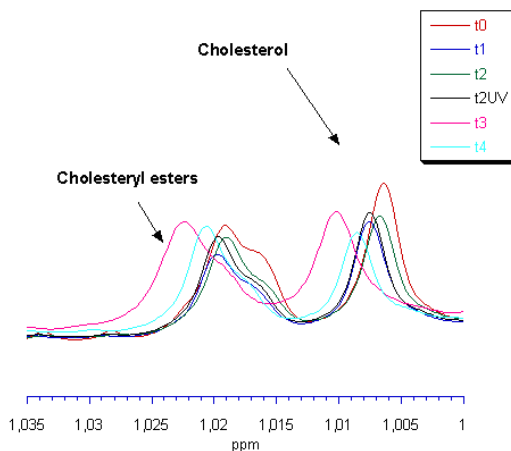


Fig. 9 Evoluzione del contenuto di Colesterolo e suoi esteri nei campioni durante la conservazione

Dalle analisi svolte emerge una correlazione stretta tra i fenomeni ossidativi a carico dei lipidi e l'imbrunimento osservato nei campioni.

TBARS

L'analisi TBARS per determinare la concentrazione di malondialdeide conferma l'andamento osservato per aldeidi visibili all'NMR. L'ipotesi più plausibile potrebbe riguardare il coinvolgimento di reazioni carbonile-ammina fra aldeidi e amminoacidi a formare composti ad alto peso molecolare come composti tipo Maillard. Altro fattore da considerare per valutare l'andamento dei composti aldeidici è la loro volatilità. Un segnale largo a campi bassi dello spettro protonico NMR conferma la presenza di aggregati macromolecolari ad alto peso molecolare.

2. BOTTARGA IN BAFFE. ANALISI SULL'ESSUDATO

Analisi microbiologiche

Le analisi microbiologiche hanno rivelato che il materiale bianco rimosso dalle superficie delle baffe non è di natura microbica. Infatti, le conte ottenute su PCA e Rosa bengala (<10) escludono che possa trattarsi di microrganismi. Dalle osservazioni al microscopio ottico il materiale appare di struttura cristallina, in aggregati più o meno amorfi.

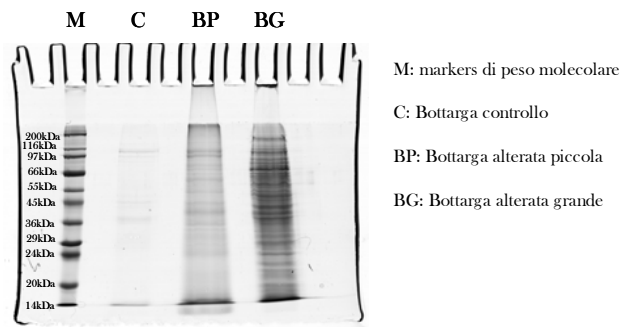


Fig. 10 Elettroforesi dei campioni

SDS-PAGE

Il profilo elettroforetico mostra che il materiale dilavato dai campioni, con essudato, solubile in acqua, è prevalentemente di natura proteica. Infatti, l'intenso bandeggio cui danno luogo questi campioni non è presente nel materiale dilavato dai campioni senza essudato. Ciò ha reso opportuna una analisi NMR per caratterizzare il materiale a livello molecolare.

NMR.

La soluzione in cloroformio presenta una composizione identificabile con la composizione lipidica della bottarga, senza differenze rilevanti. Si può pensare che il processo di rimozione meccanica dell'essudato abbia coinvolto anche il raschiamento di parte del *bulk*. La frazione polare in acqua deuterata ha invece rivelato che la quasi totalità di essa è rappresentata dall'aminoacido **tirosina**. La presenza di cristalli di tirosina è stata precedentemente osservata in altri prodotti alimentari quali prosciutti (tra cui Prosciutto di Parma, Prosciutti iberici), formaggi (es. Parmigiano Reggiano, Grana, cheddar cheese) e spesso assunto come indice di qualità e garanzia di lunga e attenta stagionatura. In effetti un attento controllo delle temperature di stagionatura e pressatura delle baffe potrebbe evitare l'insorgere del problema. La soluzione acquosa è stata successivamente ridisciolta, ricristallizzata e purificata diverse volte, finché si sono osservati cristalli ben formati di cui è stato possibile acquisire fotografie al microscopio ottico, come mostrato sotto (Fig. 11).

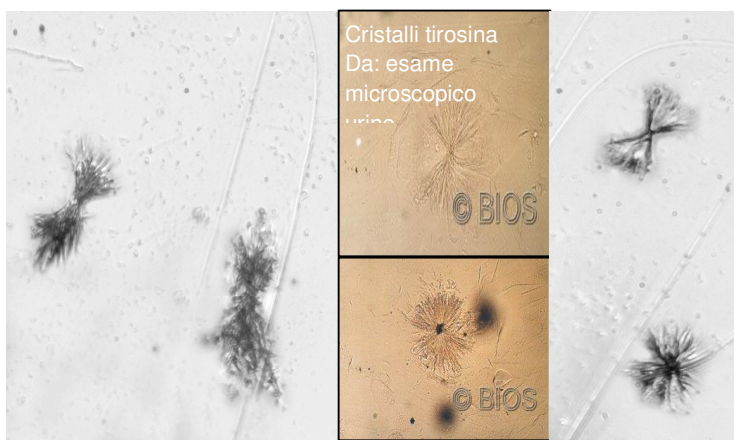
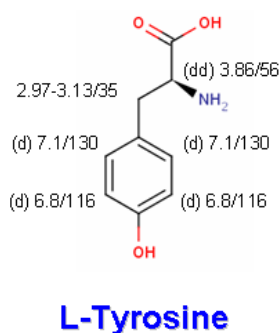


Fig. 11 Cristalli aghiformi di tirosina

Sono riportate nella stessa figura per confronto dei cristalli di tirosina riscontrati su campioni di urine. Si può osservare che la presenza di fasci di cristalli aghiformi tipici della tirosina sono esattamente confrontabili.



Il profilo di composizione dell'estratto in cloroformio, analizzato all'NMR, non si presenta differente dall'estratto lipidico della bottarga stessa. Non si osservano anomalie degne di nota, se non che la concentrazione dei grassi nel campione è piuttosto elevata. L'analisi eseguita è comunque solo qualitativa. La concentrazione della frazione polare in acqua deuterata è decisamente più bassa rispetto a quanto osservato per la frazione apolare, in cloroformio, e il composto a maggiore concentrazione risulta essere la tirosina. Altri aminoacidi, associati a segnali di intensità molto bassa, sono distinguibili nello spettro protonico monodimensionale e nelle mappe TOCSY, ma la mappa ¹H-¹³C HSQC mostra inequivocabilmente che il campione è costituito quasi unicamente da tirosina. La presenza inoltre di un gruppo acetato si osserva in tutte le analisi, ma la sua entità è ancora da chiarire.

Il confronto con la letteratura tende a giustificare la presenza di tirosina nell'essudato di bottarga. Il fenomeno di formazione di cristalli di tirosina è stato precedentemente osservato in numerosi alimenti che subiscono un processo di stagionatura: caviale, prosciutto, formaggio (tra cui il Parmigiano), pasta di soia. Talvolta, stando alla letteratura, la presenza di cristalli di tirosina viene attribuita a un lungo processo di stagionatura e assunto come indice di genuinità del prodotto. In effetti l'accumulo di cristalli di tirosina è scientificamente da attribuirsi alla sua scarsa solubilità in acqua (la seconda più bassa dopo la cisteina). La concentrazione di cisteina nell'essudato, però, stando alle attuali misure NMR, è trascurabile rispetto a quella della tirosina. La presenza di amminoacidi liberi è inoltre sicuramente da attribuire all'attività di enzimi proteolitici e risulta essere influenzata dalla temperatura.

Nella figura seguente (Fig. 12) sono invece riportati gli spettri NMR relativi alla frazione in acqua deuterata dell'essudato di bottarga e, per confronto, spettri standard di tirosina, presi dalla letteratura (Biological Magnetic Resonance Bank, www.bmrb.wish.edu). Le relative assegnazioni sono riportate in corrispondenza della formula della molecola.

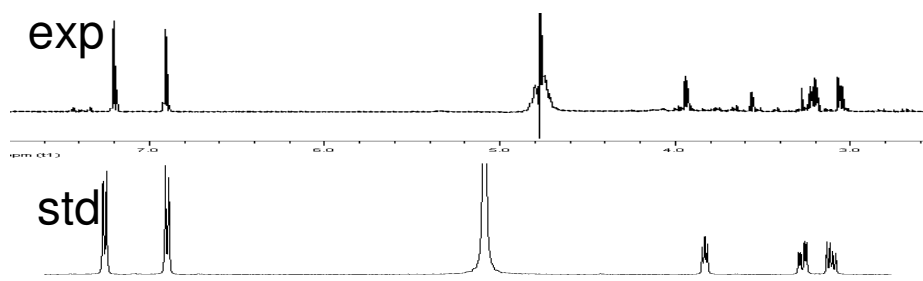


Fig. 12 Spettri NMR della frazione solubile in acqua

Alimento	Q.tà mg/100gr p.e.
Grana	2000
Parmigiano	1750
<u>Cefalo muggine, uova [bottarga]</u>	<u>1466</u>
Provolone	1464
Pecorino romano	1402
Arachidi, tostate	1349
Pinoli	1242
Faraona, coscio, senza pelle, cotto [allo spiedo senza aggiunta di grassi e di sale e scolato dal grasso prodotto con la cottura]	1216
Bresaola	1125
Caciottina vaccina	1070
Salame Napoli	1053
Speck	1048
Pollo, petto, cotto [saltato in padella senza aggiunta di grassi e di sale]	1042
Tacchino, fesa, cotta [saltata in padella senza aggiunta di grassi e di sale]	1036
Gorgonzola	1030
Salame Felino	1030
Maiale, leggero, bistecca, cotta [saltata in padella senza aggiunta di grassi e di sale]	1011

Fig. 13 Tenore di tirosina (mg/100g) in diversi alimenti

La concentrazione di tirosina e' piuttosto alta nella bottarga, come dimostrato dalla seguente tabella, che paragona il contenuto di tirosina in diversi cibi (fonte: Istituto Nazionale di Ricerca per gli Alimenti e la Nutrizione, Tabelle di Composizione degli Alimenti (agg. 2000), EDRA Medical Publishing).

La formazione di cristalli in condizioni di bassa temperatura (spesso infatti i cristalli si osservano quando la bottarga e' conservata in frigorifero) e' comprensibile se si considerano le solubilita' in acqua degli aminoacidi, come motrato nella figura seguente:

La solubilita' della Tirosina e' inferiore a 1gr ogni 100 gr di acqua a 100°C

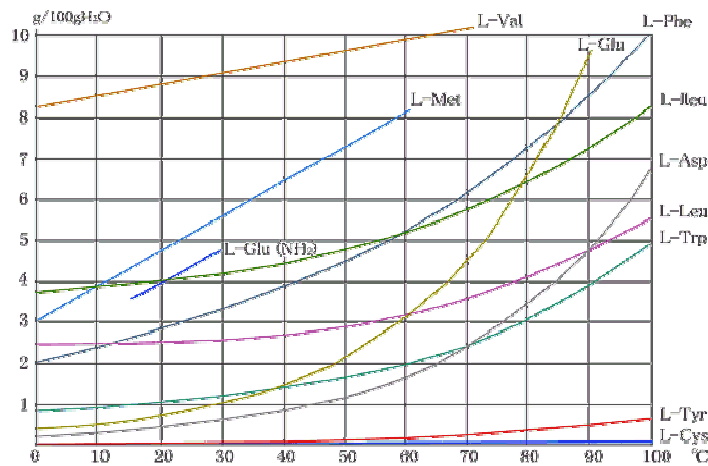


Fig. 14 Tenore di tirosina (mg/100g) in diversi alimenti

E' interessante osservare a proposito che formaggi come Grana e Parmigiano, che precedono la bottarga nella tabella, presentano lo stesso fenomeno osservato nel caso della bottarga, cioe' la formazione di cristalli di questo aminoacido.

3. BOTTARGA IN BAFFE INTERA ED AFFETTATA.

Formazione di composti di ossidazione dei lipidi

ANALISI COLORIMETRICA

Dalle analisi di colore è emerso che la bottarga confezionata a fette si inscurisce di più e più velocemente rispetto alle baffe intere, anche se le differenza tra i campioni tendono a diminuire col tempo di conservazione.

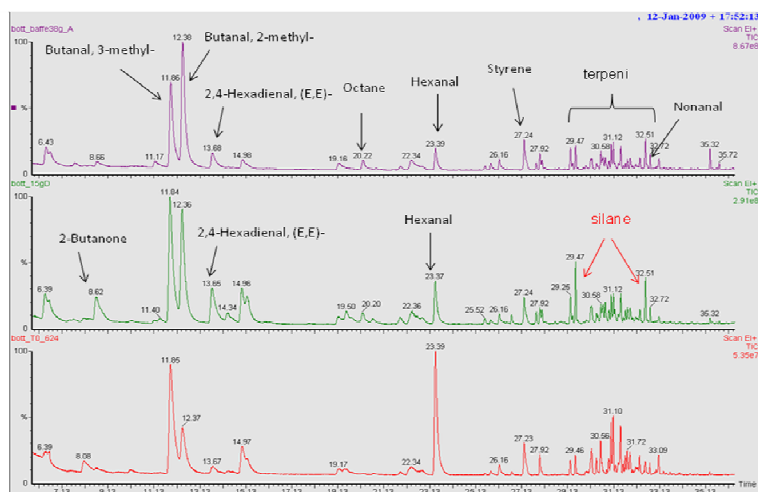
ANALISI GC/MS e SPME

Nella seguente tabella è riportato il profilo dei composti volatili riscontrati nei campioni analizzati:

COMPOSTO	TR (tempo ritenzione)
Propanal (?)	4,29
Propanal, 2-methyl-	6,39
2-Butanone	8,62
Butanal, 3-methyl-	11,83
Butanal, 2-methyl-	12,35
2,4-Hexadienal, (E,E)-	13,66
pentanal	15,18
1-Butanol, 3-methyl-	19,50
1-Butanol, 2-methyl-	19,74
Octane	20,21
Hexanal	23,37
1,3-cis,5-cis-Octatriene	25,53
p-Xylene	26,16
Styrene	27,24
Origanene	27,76
Heptanal	27,92
terpene	28,01
Heptane, 2,2,4,6,6-pentamethyl-	29,47
5-Methyl-1,5-hexadien-3-ol	30,16
Nonane, 3-methyl-5-propyl-	30,58
Limonene	30,68
o-Cymene	30,77
Heptane, 5-ethyl-2,2,3-trimethyl-	31,02
Undecane, 3,6-dimethyl-	31,12
Undecane, 3-methyl-	31,44
Octane, 6-ethyl-2-methyl	31,73
Undecane, 4,7-dimethyl-	31,85
Decane, 2,6,6-trimethyl-	32,28
Nonanal	32,72
Hexane, 2,2,5,5-tetramethyl-	33,10

Fig. 15 Profilo dei composti volatili in bottarga

L'esanale (hexanal), indicatore di ossidazione a carico dei lipidi della famiglia n-6 (es. Acido Arachidonico e/o Linoleico) sembra diminuire nel tempo in entrambe le tipologie di prodotto probabilmente a causa di una sua riduzione ad alcol.



In base ad alcuni lavori effettuati sui prodotti ittici è stato osservato che l'esanale può derivare dalla degradazione ed ossidazione dell'acido arachidonico (20:4n6).

Un dato interessante è la presenza di alcuni terpeni, solitamente indicatori di pesci allevati in modo selvatico e semiselvatico. E' stato osservato che il contenuto in terpeni è superiore nella bottarga in fette rispetto a quella in baffe.

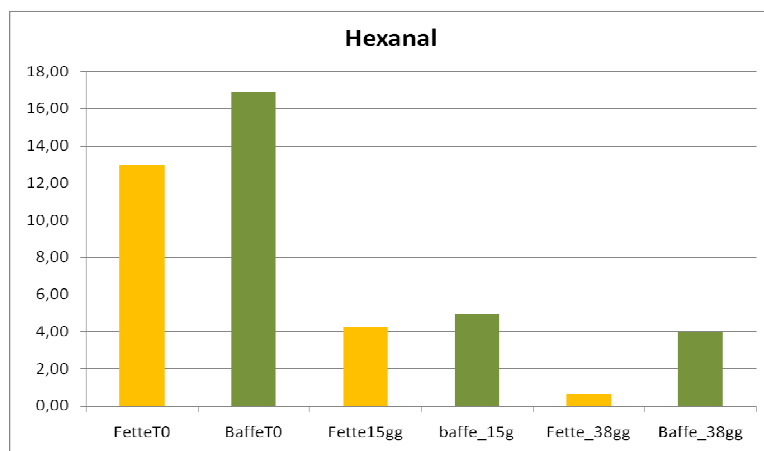


Fig. 16 Evoluzione del contenuto di esanale nei campioni durante la conservazione

Altri composti solitamente utilizzati per monitorare fenomeni di ossidazione, quali 2,4 Esadienal, pentanal, heptanal, nonanal sono stati identificati e sono presenti in quantità maggiore nella bottarga in fette. Questi composti tendono a diminuire nel tempo, mentre nella bottarga in baffe l'andamento è più discontinuo probabilmente a causa della variabilità intrinseca al campione (Figg. 17-19).

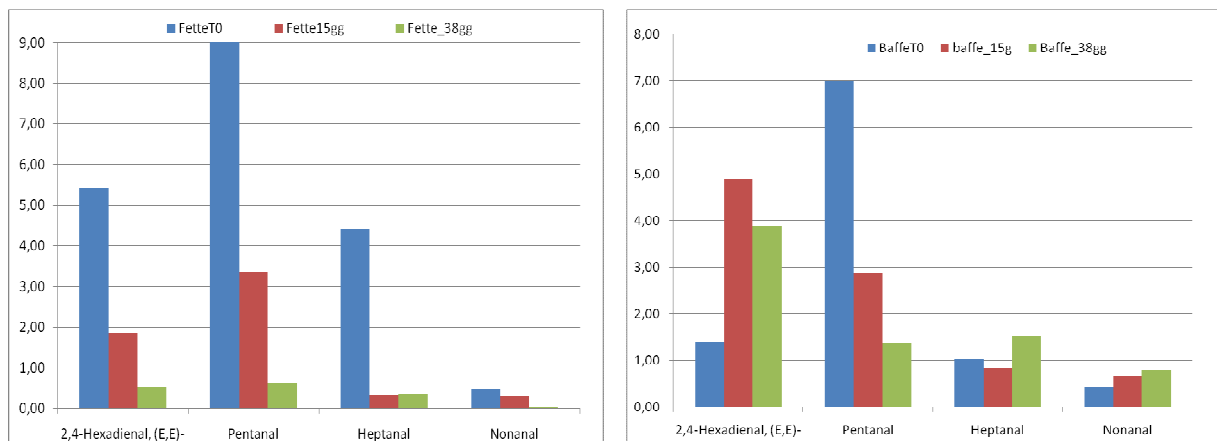


Fig. 17 Aldeidi lineari nei campioni in baffe e a fette

Importante notare che a 38 giorni i composti indicatori di ossidazione degli acidi grassi (per es. il e il nonanale derivano dall'ossidazione dell'acido oleico), quali 2,4-Hexadienal, Pentanal, Heptanal, Nonanal, siano presenti maggiormente nella bottarga in baffe rispetto a quella in fette. Va considerato comunque che la stagionatura può portare ad un'azione idrolitica degli enzimi endogeni e microbici (lipasi e fosfolipasi) e dia origine ad una vasta gamma di acidi grassi liberi, provenienti da trigliceridi e fosfolipidi, che fungono da substrato per l'ossidazione e dai quali hanno origine molecole carboniliche di vario genere. Dai dati ottenuti si può notare che tale processo può essere stato presente in misura maggiore nella bottarga in baffe.

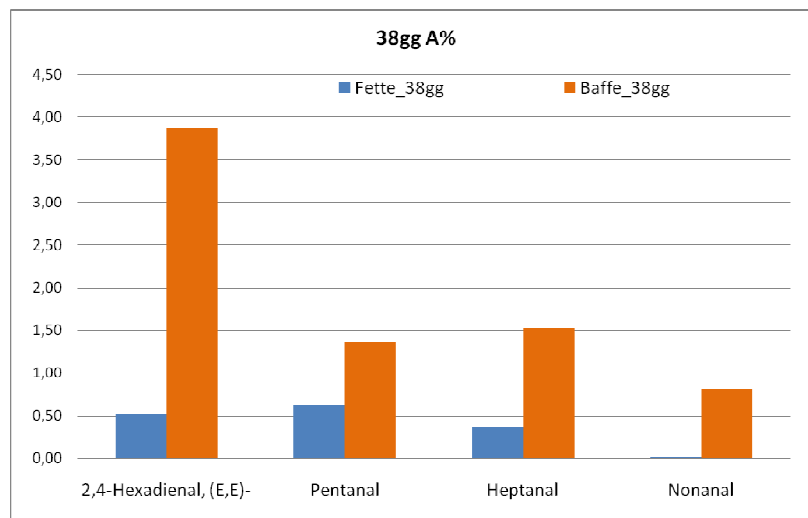


Fig. 18 Aldeidi lineari nei campioni in baffe e a fette a fine sperimentazione

La formazione di altri composti, quali il 2-methyl-butanale and 3-methyl-butanale, è tipica di composti ricchi in proteine e in cui si è attivato un processo di degradazione degli amino acidi. Nei campioni analizzati si può osservare che il 2-methyl-butanale subisce un incremento nel tempo sia nella bottarga a fette che nella bottarga in baffe e si può osservare che la bottarga in fette a 38 giorni ha un contenuto di 2-methyl-butanale superiore anche se le differenze non sono significative.

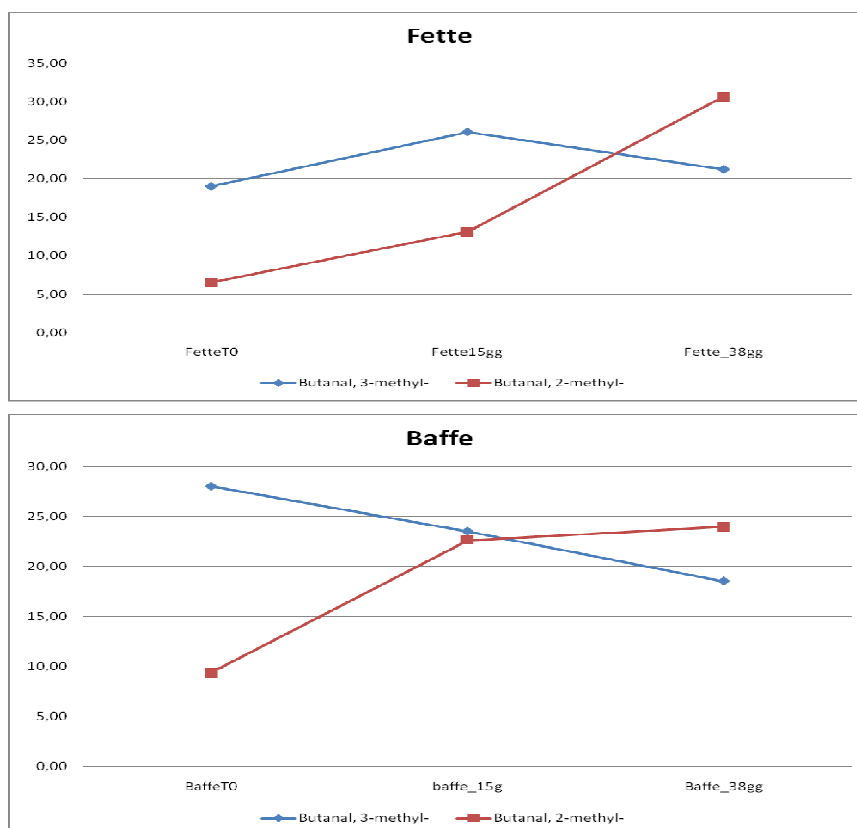


Fig. 19 Aldeidi lineari nei campioni in baffe e a fette a fine

CONCLUSIONI

In definitiva, le analisi effettuate confermano l'ipotesi formulata che il fenomeno dell'imbrunimento osservato nella bottarga sia legato alla ossidazione dei grassi e alle attività proteolitiche di enzimi endogeni. Tra i prodotti di ossidazione osservati mediante spettroscopia NMR infatti vi sono le specie chimiche altamente reattive, come le aldeidi, che reagendo con peptidi e amminoacidi danno luogo alla formazione di melanoidine scure. L'uso di film plastici con filtri ai raggi u.v. si è rivelato uno strumento sicuramente efficace per diminuire i fenomeni di ossidazione a carico dei grassi e il conseguente imbrunimento del prodotto.

La natura dell'essudato bianco presente nella bottarga è risultato essere di natura proteica. Infatti, le analisi SDS_PAGE e gli spettri NMR indicano che i cristalli, osservati al microscopio dal precipitato della frazione solubile in acqua, sono costituiti dall'aminoacido tirosina. La tirosina è presente in alte concentrazioni nel prodotto e la sua bassa solubilità fa sì che essa precipiti con conseguente formazione dei cristalli. Naturalmente il contenuto di tirosina è legata alla attività proteolitica endogena, per cui interventi tecnologici per ridurre la degradazione delle proteine, come ad esempio abbassare la temperatura nelle fasi di lavorazione e un adeguato spurgo dei liquidi dalle baffe prima dell'essiccazione, possono risultare utili per contenere il fenomeno.

Infine, dalle analisi effettuate sulla bottarga in baffe e affettata, non emergono differenze rilevanti nei composti di ossidazione durante nella conservazione, anche se nel prodotto affettato è stato osservato un imbrunimento più marcato rispetto alle baffe intere.

HAMBURGER



L'**hamburger** è una polpetta di carne tritata e pressata, condita con aromi, verdure, sale, zuccheri, eventuali emulsionanti e stabilizzanti. Il nome è di origine statunitense e sembra che fosse usato dai coloni americani per indicare i piatti provenienti dal mare Baltico, in particolare una polpetta di carne (*bitok*) simile all'hamburger moderno. Ne esistono di carne bovina, carne suina, di pollo o di formaggio. La qualità dell'hamburger è strettamente legata al tipo di carne usata: la più pregiata proviene dal quarto anteriore del bovino, utilizzando quindi il muscolo con quantità di

grassi ridotta.

La sua diffusione mondiale è dovuta alla multinazionale dei *Fast food*, cioè cibi da consumarsi rapidamente, molto calorici, propri dello stile frenetico delle grandi città. Ciò non impedisce che un hamburger possa anche essere preparato accuratamente (in particolare riducendo la percentuale di grassi, ad esempio con *fat replacers*) e rientrare in una dieta bilanciata.

Problematica di *shelf life*

La sperimentazione è stata condotta su preparati di carne macinata, hamburger, in collaborazione con l'azienda "E.P. Supercarni" di Cagliari. Il prodotto viene formulato con parti di carne bovina e suina, condito con spezie e addizionato con un preparato aromatizzante e conservante (Aromil Rosy) a base di acido ascorbico e ascorbato di potassio. In questo caso l'acido ascorbico viene utilizzato da coadiuvante tecnologico per abbassare il pH e stabilizzare in un certo grado il colore. Il prodotto viene commercializzato in vaschette avvolte con un film termo estensibile, con una *shelf-life* indicata dall'azienda di 7 giorni.

Il fattore limitante la *shelf-life* è la decolorazione del prodotto, con la perdita graduale del colore rosso intenso per passare a fine *shelf-life* a un colore marrone-grigio. In altre parole lo scadimento sensoriale del prodotto precede quello microbiologico.

Obiettivo del lavoro era quello di estendere la *shelf-life* del prodotto, aumentando la persistenza del colore tipico della carne fresca. Naturalmente, anche il contenimento delle cariche microbiche è un obiettivo da perseguire per preservare la sicurezza d'uso del prodotto, che deve essere esente da patogeni (*Listeria monocytogenes*, *Salmonella* e *Escherichia coli* in particolare) e conservare basse conte microbiche per la durata della *shelf-life*.

Aspetti biochimici del colore della carne

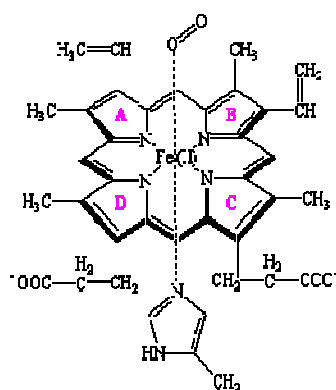


Fig. 20 Gruppo eme della mioglobina.

La carne è costituita da acqua, proteine e grassi, principalmente. Il colore della carne fresca è dovuto principalmente alla mioglobina, proteina globulare, che ha la funzione di legare reversibilmente l'ossigeno e anidride carbonica negli scambi gassosi tra sangue e muscolo, e viceversa. E' localizzata nel citoplasma delle fibre muscolari. La mioglobina è dotata di un gruppo prostetico "eme" con al centro un atomo di ferro, capace di legare ossigeno, anidride carbonica, monossido di carbonio (Fig. 20).

Il ligando presente e lo stato di ossidazione dell'atomo di ferro nell'eme determinano il colore del muscolo e di conseguenza il colore prevalente della carne.

1. Ossigenazione. La mioglobina si trova in forma di deossimioglobina quando sul gruppo prostetico non sono presenti ligandi e il ferro si trova nello stato di ossidazione Fe^{2+} . Ne risulta un colore rosso porpora tipico della carne appena tagliata. Il mantenimento di questo colore è legato alla presenza di basse tensioni

di ossigeno, tipiche del confezionamento sottovuoto. L'ossigenazione si verifica quando la carne è esposta all'ossigeno (Fig. 2, 1), e si caratterizza per lo sviluppo di un colore rosso brillante (ossimioglobina). Lo stato di ossidazione del ferro non cambia.

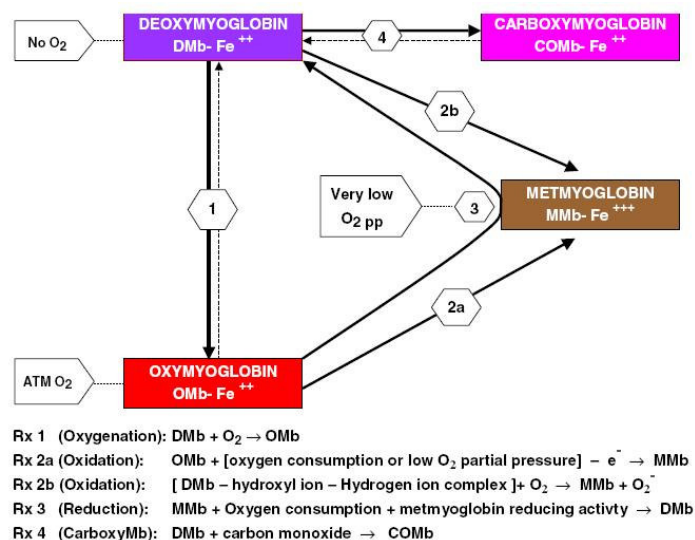


Fig. 21 Schema riassuntivo delle reazioni *redox* che possono avvenire a carico della mioglobina

2. Ossidazione. Il cambiamento dello stato di ossidazione del ferro, sia che la molecola si trovi nella forma ossigenata o no, causa la discolorazione della carne. L'ossidazione da Fe^{2+} a Fe^{3+} comporta la trasformazione in metmioglobina, di colore marrone (Fig 21). La reazione avviene normalmente in seguito al graduale consumo dell'ossigeno nei tessuti "post mortem" ed è legata ad altri fattori come il pH, il potenziale *redox*, ma anche a sviluppo batterico. Il colore marrone è man mano più evidente anche in conseguenza della perdita di acqua dai tessuti e concentrazione del pigmento durante la conservazione.

3. Ossidazione + riduzione. La conversione di ossimioglobina in deossimioglobina, che può avvenire quando il tenore di ossigeno scende a livelli molto bassi, come nel caso del confezionamento sottovuoto o con assorbitori di ossigeno, è una reazione che avviene in due stadi. Dapprima avviene il passaggio del ferro da Fe^{2+} a Fe^{3+} e la conversione di ossimioglobina (rossa) in metmioglobina (marrone). L'ulteriore riduzione e la formazione di deossimioglobina è legata sia alla capacità di riduzione del muscolo e sia all'abbassamento ulteriore del tenore di ossigeno.

Da quanto su esposto, è chiaro che l'obiettivo deve essere quello di stabilizzare il colore della carne favorendo la formazione di ossimioglobina o deossimioglobina, e limitando invece i fattori che favoriscono la conversione del pigmento in metmioglobina.

La soluzione tecnica ideale è in realtà l'esposizione del muscolo a bassi tenori (0,3-0,5% nell'atmosfera attorno all'alimento) di **monossido di carbonio**, che porta alla formazione di un pigmento stabile (carbossiomioglobina) di un bel colore ciliegia. Inoltre, il monossido di carbonio esercita un blando effetto batteriostatico su Pseudomonadacee e enterobatteri. La legislazione Italiana (**DPCM del 25/3/83**) prevede per il monossido di carbonio, un valore soglia di 10 mg/m^3 di aria per esposizioni non superiori alle 8 ore che corrisponderebbe ad un valore di carbossiomioglobina nel sangue dei soggetti esposti, non superiore al 5% dell'emoglobina totale. Da studi tossicologici risulta che sintomi di avvelenamento da monossido di carbonio si manifestano quando la percentuale di questo gas nell'aria che respiriamo, supera il 10% e soltanto quando essa oltrepassa il 50% si corrono seri pericoli di morte. Nonostante ciò, la legislazione italiana non consente l'uso di monossido di carbonio per il *packaging* in atmosfera controllata, impedimento legato più che altro alla gestione in azienda di questo gas, vista la sua potenziale pericolosità. In Norvegia, dove è consentito l'uso del monossido di carbonio per il *packaging* in percentuali non superiori all'1%, il problema della gestione di questo gas è stato risolto miscelandolo in piccole quantità insieme al

gas di riempimento comunemente utilizzato nel confezionamento in atmosfera controllata, l'azoto, per cui, anche in caso di perdite o mancata tenuta degli impianti, esso non costituisce un pericolo.

Aspetti microbiologici

La normativa europea (**Regolamento (CE) N. 1441/2007 della Commissione del 5 dicembre 2007 che modifica il regolamento(CE) n. 2073/2005 sui criteri microbiologici applicabili ai prodotti alimentari**) distingue tra "Criteri di sicurezza alimentare" e "Criteri di igiene del processo". I primi definiscono l'accettabilità di un prodotto immesso sul mercato, mentre i secondi definiscono l'accettabilità del funzionamento del processo produttivo, e non si applicano agli alimenti posti sul mercato. Per "carne macinata e prodotti a base di carne di animali diversi dal pollame, destinati ad essere consumate cotte" l'unico "Criterio di sicurezza alimentare" adottato è l'assenza di Salmonella in 10g. Per le "preparazioni a base di carne" il parametro di igiene è invece l'E.coli: $m 5 \times 10^2$ e $M 5 \times 10^3$ ufc/g.

Per ciò che attiene alla conservabilità, i microrganismi importanti che limitano la *shelf-life* dei prodotti carnei freschi sono principalmente *Pseudomonas* e Batteri lattici. Questi microrganismi sono responsabili dello sviluppo di cattivi odori e patine sul prodotto che ne rendono inaccettabile il consumo.

MATERIALI E METODI

La formazione e il mantenimento della ossimioglobina può essere favorito da un *packaging* in atmosfera controllata (**Controlled Atmosphere Packaging** o **CAP**, in inglese) con alte percentuali di ossigeno, in cui la miscela di gas interna alla confezione è mantenuta costante (Controlled) grazie all'uso di **materiali plastici con proprietà di barriera ai gas**. In questo caso i piccoli cambiamenti nella composizione dello spazio di testa dovuta alle attività metaboliche dei microrganismi è trascurabile. La formazione e mantenimento della deossimioglobina può essere ricercata confezionando il prodotto con assorbitori di ossigeno, creando una atmosfera anossica all'interno delle confezioni. Inoltre, si è voluta saggiare la reale efficacia dei conservanti utilizzati dall'azienda da soli e in sinergia con il sistema di packaging adottato.

E' stato perciò approntato un piano di lavoro con le seguenti tesi sperimentali:

Piano di lavoro Hamburger

Campione Controllo (C1): il prodotto come viene confezionato dalla azienda "con antiossidante" Amyl Rosy 0,3% (4 hamburger per vaschetta – 5 vaschette= **20 hamburger**)

Campione Controllo (C2): il prodotto come viene confezionato dalla azienda "senza antiossidante" (4 hamburger per vaschetta – 5 vaschette= **24 hamburger**)

Atmosfera controllata (1): 70%O₂, 30%CO₂. Prodotto "con antiossidante" Amyl Rosy 0,3% confezionato da noi con film barrierato. (4 hamburger per vaschetta – 6 vaschette= **24 hamburger**)

Atmosfera controllata (2): 70%O₂, 30%CO₂. Prodotto "senza antiossidante" confezionato da noi con film barrierato. (4 hamburger per vaschetta – 6 vaschette= **24 hamburger**)

Assorbitori (3): Prodotto "con antiossidante" Amyl Rosy 0,3% confezionato da noi con film barrierato, 35% CO₂ + 65% N₂. (4 hamburger per vaschetta – 6 vaschette= **24 hamburger**)

Assorbitori (4): Prodotto "senza antiossidante" confezionato da noi con film barrierato, 35% CO₂ + 65% N₂. (4 hamburger per vaschetta – 6 vaschette= **24 hamburger**)

I prodotti sono stati conservati a 3°C.

ANALISI CHIMICO-FISICHE.

Sui campioni sono state effettuate le seguenti determinazioni:

attività dell'acqua (**a_w**) con lo strumento aqualab, umidità (%) in stufa ventilata a 100°C, pH (pHmetro Hanna instruments), colorimetriche (Spettrofotometro CM700D, minolta), ricavando le coordinate CIE L*a*b*, misure dei gas CO₂, O₂, e N₂ (dansensor gas analyser) presenti all'interno delle confezioni.

ANALISI GC/MS

Su circa 6 gr. di carne macinata sono stati aggiunti 5 µl di BHT al 5% in meOH.

Su ogni vial da 20 ml con tappo a vite vengono inseriti 3 gr di macinato per l'analisi dei composti volatili.

La tecnica utilizzata ha previsto l'utilizzo di una fibra per SPME (Solid Phase Micro Extraction) ed analisi in GC-MS. Dopo alcune prove in base alla bibliografia presente e la messa a punto del metodo la fibra utilizzata per le analisi è stata la bifasica CAR-PDMS.

I campioni sono stati analizzati in doppio.

Campioni analizzati: C2_0, 3, 7, 10 giorni; C1_0, 7, 14 giorni e 2_0,7,14 giorni.

L'analisi è stata effettuata sul campione C1 (confezionato in stretch con antiossidante), C2 (confezionato in stretch senza antiossidante) e 2 (campione in MAP 70%O₂, 30%CO₂, senza antiossidante). I campioni sono stati selezionati allo scopo di valutare l'influenza dell'antiossidante e dell'atmosfera modificata sullo sviluppo di composti di ossidazione secondari dei lipidi.

Parametri GC-MS

La Colonna utilizzata per le analisi in GC-MS è stata la DB-624 (indicata per l'analisi dei composti volatili), 30 m x 0.25 mm x 1.4 µm film thickness.

Carrier: He, flusso 1 ml/min, iniettore a 270°C.

Rampa temperatura: 40°C per 15min, 3°C/min fino a 110°, 5°C/min fino a 150°, 10°C/min fino a 210°C, per 10 minuti.

Mass range : 27 – 400 m/z.

Ionization mode: E+, Transfert Line: 260°C, source temperature: 200°C.

Fibra utilizzata: CAR/PDMS.

Estrazione SPME: Temp. 37°C, Pre-incubation: 30 minuti, Estazione: 45 minuti , desorbimento 3 minuti.

ANALISI MICROBIOLOGICHE

I campioni sono stati analizzati a 0, 3, 7, 9 e 13 giorni. Le classi microbiologiche ricercate e i metodi adottati sono riassunti nella seguente tabella:

fig. 22. Classi microbiologiche e metodi adottati per la semina e la conta delle ufc

Conta microbica totale	PCA per spatolamento, 72h a 30°C
Coliformi e <i>Escherichia coli</i> presunti	VRBA+MUG per inclusione, in doppio strato. 24h a 37°C. Coliformi: colonie di 1-2 mm circondate da alone rossastro. E. coli presunti: Colonie di coliformi che danno una fluorescenza bluastra in lampada u.v. a 366 nm.
Batteri lattici	MRS per inclusione; incubazione in giara in anaerobiosi. 5 gg a 30°C
<i>Pseudomonas</i> spp	Pseudomonas CFC Agar, per spatolamento, 2 gg a 25°C

ANALISI SENSORIALE

I campioni sono stati oggetto di analisi sensoriale da parte di 5 *panelists* addestrati. È stata approntata a riguardo la seguente scheda di valutazione sensoriale basata sulla valutazione dell'aroma e del colore:

Scheda di valutazione sensoriale

(Modificato da Berruga et al 2005, *Small ruminant research* 57, 257-264)

Data.....

Panelist.....

OFF-ODOUR:

- 1: non accettabile, forte off-odour
- 2: accettabile, leggero off-odour
- 3: molto accettabile, assenza di off-odour

COLORE:

- 1: Brutto colore (non accettabile)
- 2: Colore scarso ma accettabile se il prodotto costa poco
- 3: Colore buono
- 4: Colore molto buono
- 5: Colore eccellente

Campione	Off-odour	Colore
C1 Con antiossidante		
C2 Senza antiossidante		
1 70/30 senza AO		
2 70/30 + AO		
3 ASS senza AO		
4 ASS + AO		

I campioni erano da considerarsi non accettabili se un punteggio medio di off-odour < a 2 o un brutto colore. I campioni sono stati analizzati per l'analisi sensoriale dopo 0, 3, 7, 9 e 13 giorni dal confezionamento

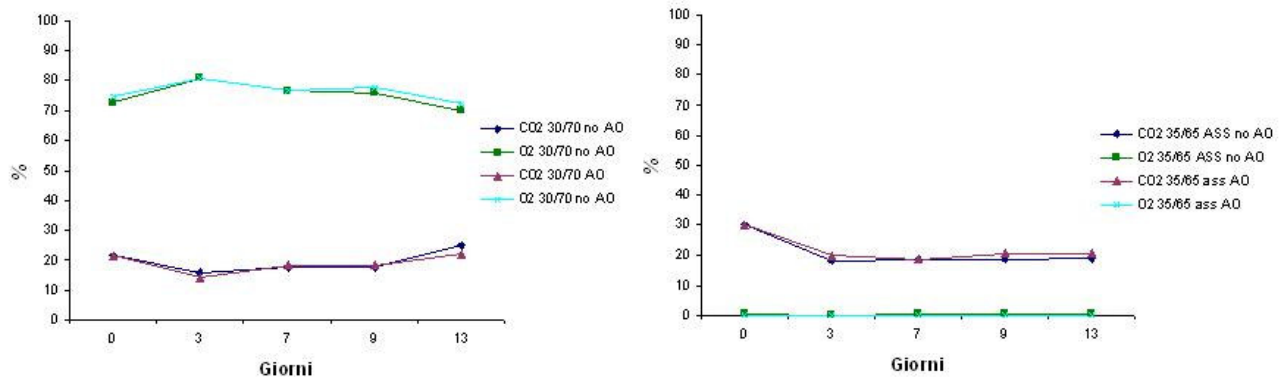
Tutte le analisi sono state ripetute in triplo per ogni tempo analitico.

RISULTATI E DISCUSSIONE

ANALISI CHIMICO-FISICHE

aw, umidità % e pH nei campioni non sono variati significativamente durante la conservazione, attestandosi su valori di 0,97, 63% e 6,00, rispettivamente. Questi valori non costituiscono un impedimento alla proliferazione di microrganismi. Dal controllo dei gas all'interno delle confezioni (Fig.23) si osserva una

Fig. 23 Percentuali di O₂ e CO₂ all'interno delle confezioni di campioni in atmosfera controllata e con assorbitori di ossigeno.



perfetta tenuta delle atmosfere controllate, grazie all'uso di un film plastico con alte proprietà di barriera ai gas.

Per quanto riguarda il colore, in figura 24 sono riportati gli andamenti della coordinata a* (rosso) e L* (chiarezza), nei campioni durante la conservazione.

Dall'osservazione diretta dei campioni si può notare come i campioni confezionati in film *stretch* dall'azienda

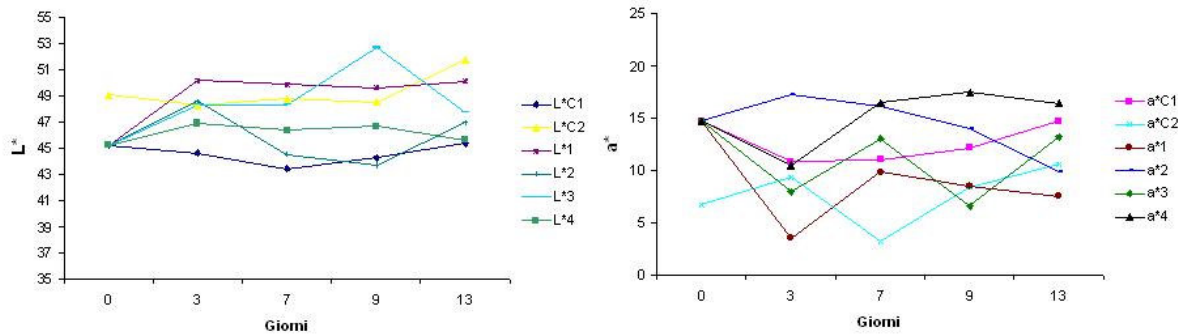


Fig. 24 Coordinate di colore a* e L* durante la conservazione

perdano in pochi giorni il colore rosso intenso della carne fresca. I campioni confezionati con assorbitori e additivo si inscuriscono nei primi giorni di conservazione, ma dopo 3 giorni esibivano un colore rosso stabile. Anche i campioni in atmosfera controllata hanno dato buoni risultati esibendo di un bel colore rosso per tutta la durata della sperimentazione. Tra i campioni, quelli che contenevano l'additivo risultavano di aspetto migliore rispetto a quelli non additivati (fig. 25).

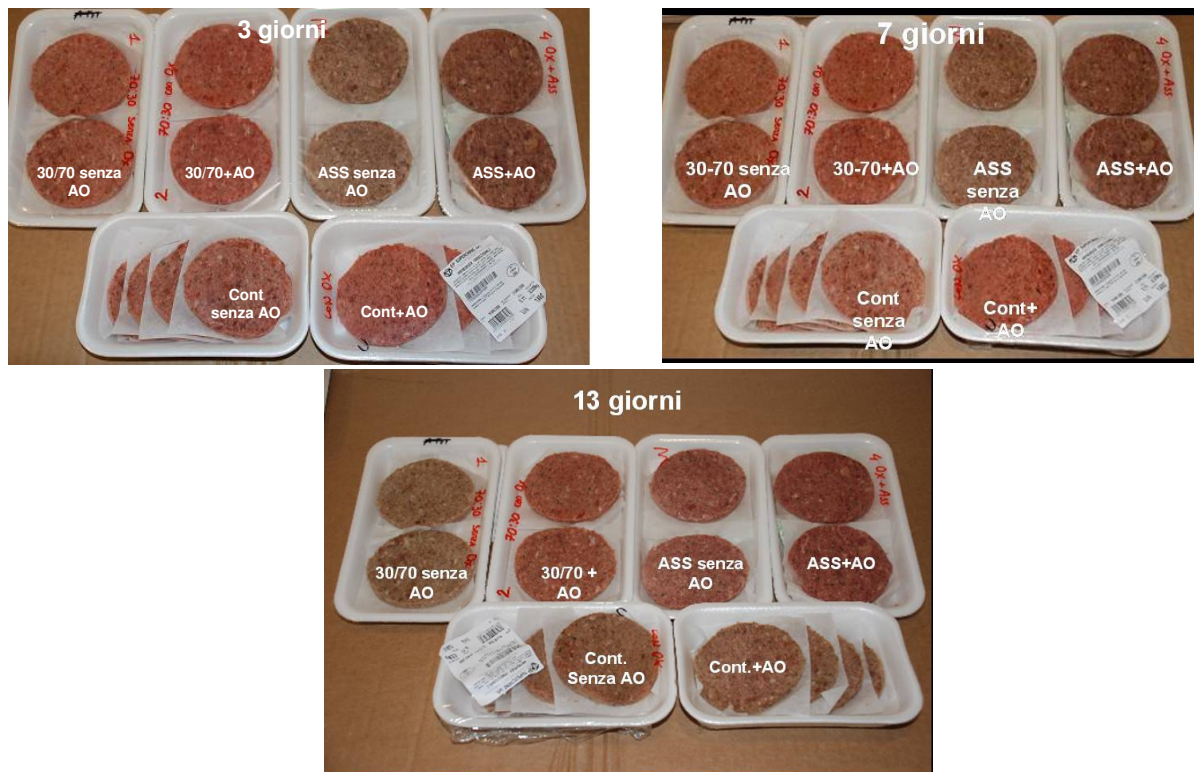


Fig. 25 Confronto visivo tra i campioni

ANALISI GC/MS

I composti più rappresentativi riscontrati nella frazione volatile degli hamburger analizzati e' evidenziata dal cromatogramma sotto stante (Fig. 26) (riferito al campione C1 a 0, 7 e 14 giorni di conservazione).

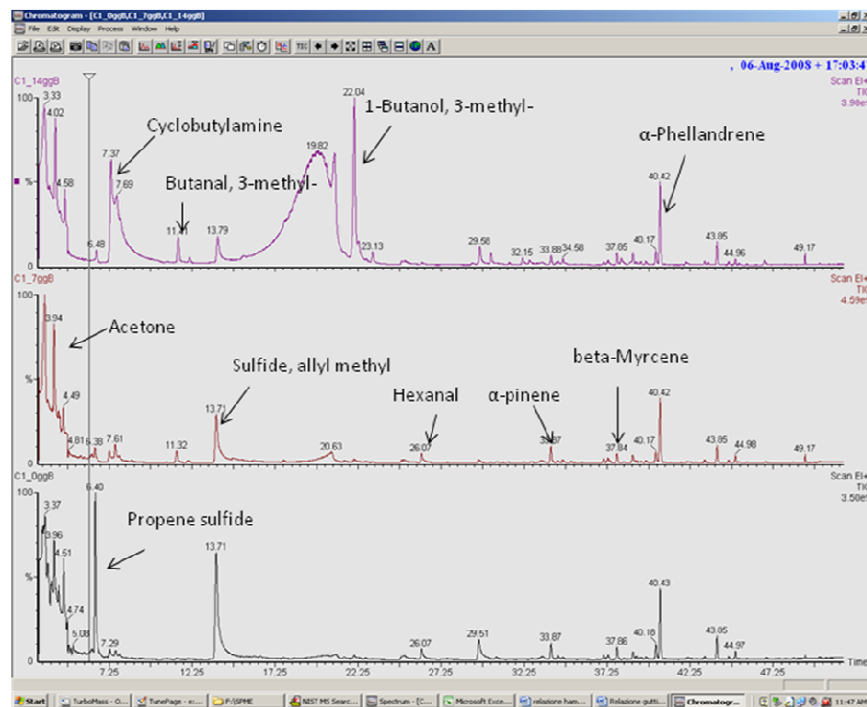


Fig. 26 Cromatogrammi e composti di ossidazione identificati

Dalle analisi effettuate e' stato osservato che l'esanale (Hexanal), composto che dovrebbe essere il principale indicatore di ossidazione lipidica per acidi grassi appartenenti alla famiglia n-6, tipici dei prodotti carnei, e' presente in quantita' molto basse e tende a ridursi con passare del tempo. Cio puo essere dovuto

al fatto che il quantitativo presente naturalmente all'origine, finisce per degradarsi e non se ne forma di nuovo. Non essendoci altri composti indicatori di ossidazione, si può concludere dicendo che nelle condizioni oggetto del presente studio, non si sono osservati fenomeni di ossidazione a carico della frazione lipidica. Dal grafico sottostante si può osservare che il campione C1 contiene un quantitativo superiore già nel prodotto di partenza, a 7 giorni aumenta leggermente in modo proporzionale in tutti i campioni per poi ridursi a zero dopo 14 giorni di esposizione alla luce.

I valori sono stati espressi come media di due ripetizioni e riportati come Area % sul totale.

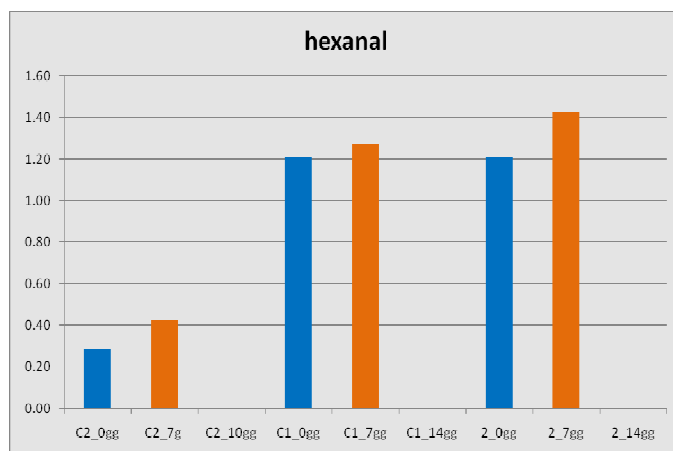


Fig. 27 Aldeide esanale nei campioni a 0 7 e 14 gg

Un composto presente in quantità significativa è il 3-metil butanale. Questo composto deriva dal catabolismo di amino acidi ramificati e come atteso è inizialmente assente, subisce da prima un incremento per poi diminuire nel tempo. Il 3-metil butanolo, che deriva dalla riduzione del 3-metil butanale, subisce invece un incremento dal tempo zero al quattordicesimo giorno, in tutte le tipologie di confezionamento. In particolare valori più elevati sono stati riscontrati nel campione 2 già dal settimo giorno.

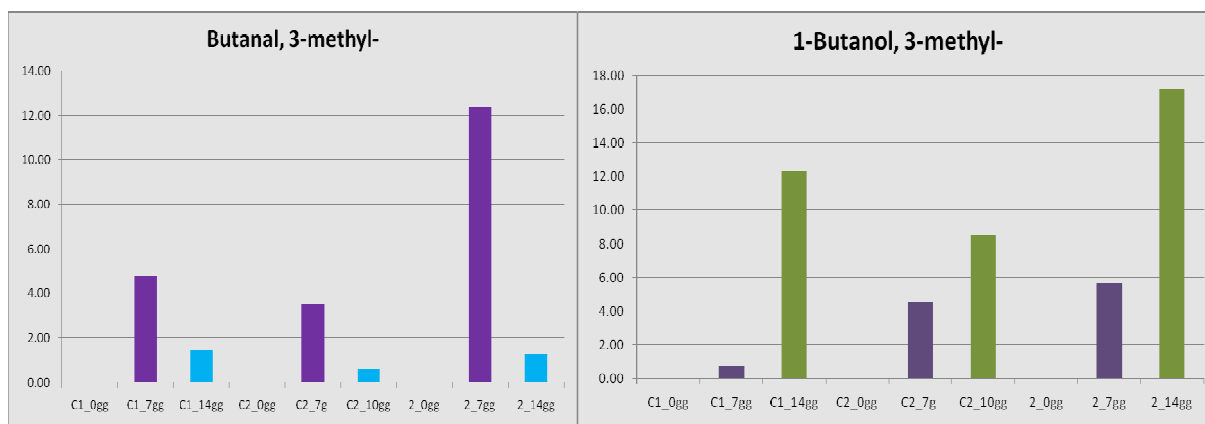


Fig 28 3-metilbutanale e 3-metilbutanolo nei campioni a 0 7 e 14 gg

Dalle analisi effettuate si può evincere che non si sono verificati marcati fenomeni di ossidazione lipidica nei campioni per il periodo di durata della sperimentazione.

ANALISI MICROBIOLOGICHE

In figura 29 sono riassunti i risultati delle analisi microbiologiche effettuate. Le cariche iniziali non elevate hanno consentito di conservare in condizioni accettabili il prodotto tal quale, dal punto di vista

microbiologico, fino al 9° giorno. Al 13° giorno le conte microbiche risultavano inaccettabili nei campioni confezionati in stretch dall'azienda, mentre i campioni confezionati con assorbitori e in atmosfera controllata sono risultati consumabili anche al 13° giorno. La microflora prevalente era costituita da *Pseudomonas* e batteri lattici che, come verrà esposto nei risultati dell'analisi sensoriale, causano uno scadimento sensoriale, soprattutto con lo sviluppo di *off-odours*. Le *Pseudomonas* sono state rallentate nella crescita nei campioni confezionati con assorbitori, in misura minore ma comunque rilevante nei campioni confezionati in MAP. Le tecniche di *packaging* adottate invece non hanno sortito effetto sulla crescita di batteri lattici, che, essendo anaerobi, ben sopportano atmosfere anossiche e alte percentuali di anidride carbonica, ne sui coliformi, anaerobi facoltativi. La presenza del prodotto conservante ha consentito di contenere le cariche nei campioni confezionati in atmosfera controllata e assorbitori di ossigeno, rispetto ai corrispettivi senza conservante.

Figura 29. Cariche microbiche negli hamburger (ufc/g) ai diversi tempi di conservazione

Conta batterica totale	0 gg	3 gg	7 gg	9 gg	13 gg
C1 (con anti ox)	4,45E+04	6,82E+04	2,89E+05	2,60E+06	1,66E+08
C2 (senza anti ox)	3,64E+05	3,50E+05	1,45E+06	1,37E+08	9,68E+08
1 (MAP senza anti ox)		1,55E+06	1,29E+06	1,63E+06	8,10E+07
2 (MAP con anti ox)		1,81E+04	7,23E+04	6,07E+05	3,82E+07
3 (MAP+Ass senza anti ox)		3,96E+05		6,27E+05	2,45E+06
4 (MAP+Ass con anti ox)		2,63E+04	3,50E+06	6,00E+04	3,06E+05
Batteri lattici					
C1 (con anti ox)	3,47E+04	2,86E+04	9,00E+04	2,66E+05	3,50E+07
C2 (senza anti ox)	3,11E+04	1,19E+04	1,07E+05	2,24E+05	
1 (MAP senza anti ox)		1,73E+04	4,15E+04	2,85E+04	1,30E+07
2 (MAP con anti ox)		6,55E+03	2,17E+04	3,00E+04	5,40E+05
3 (MAP+Ass senza anti ox)		1,69E+04	7,95E+04	7,00E+04	4,00E+07
4 (MAP+Ass con anti ox)		9,73E+03	3,35E+04	1,05E+05	1,36E+07
Coliformi					
C1 (con anti ox)	7,05E+03	4,36E+03	0,00E+00	1,37E+04	9,65E+04
C2 (senza anti ox)	2,53E+03	2,82E+03	6,94E+03	4,77E+04	7,45E+04
1 (MAP senza anti ox)		2,00E+03	3,61E+03	1,49E+04	3,38E+04
2 (MAP con anti ox)		1,60E+03	3,36E+02	1,08E+03	1,25E+03
3 (MAP+Ass senza anti ox)		2,82E+03	1,51E+03	2,80E+04	1,85E+04
4 (MAP+Ass con anti ox)		5,00E+02	4,09E+02	8,82E+02	2,36E+03
Pseudomonas					
C1 (con anti ox)	5,73E+04	5,41E+04	1,01E+06	1,15E+07	2,31E+08
C2 (senza anti ox)	3,61E+05	2,88E+06	1,41E+08	6,75E+08	9,95E+08
1 (MAP senza anti ox)		1,46E+06	8,77E+05	1,37E+06	1,44E+06
2 (MAP con anti ox)		1,05E+04	5,41E+04	3,09E+04	2,68E+04
3 (MAP+Ass senza anti ox)		6,50E+05	3,41E+05	5,36E+05	7,55E+05
4 (MAP+Ass con anti ox)		6,91E+03	7,27E+03	7,77E+03	8,00E+03

ANALISI SENSORIALE

Le confezioni sono state aperte e lasciate 15 minuti a temperatura ambiente (*blooming*) prima di effettuare la valutazione.

Figura 30. Punteggi medi dei campioni

		campioni					
	giorni	C1	C2	1	2	3	4
Odore	0	3	3	3	3	3	3
	3	3	3	2,75	3	2,75	2,75
	7	2,75	2,75	3	3	2,5	3
	9	2,75	2	2,25	2,75	2,75	3
	13	2,66	1,75	2,33	2,75	3	3,25
Colore	0	5	5	5	5	5	5
	3	4	2,5	2,5	4,25	1,25	2,5
	7	3,25	1	2,75	3,75	2,5	3,75
	9	2,5	1	1,5	3	3	3,75
	13	1,25	1,25	1	2,75	3,75	4

Legenda campioni
C1 con antiossidante
C2 senza antiossidante
1 70 O ₂ /30 CO ₂ senza AO
2 70 O ₂ /30 CO ₂ + AO
3 ASS. senza AO
4 ASS. + AO

Dall'analisi dei punteggi di colore e aroma i migliori risultati sono stati ottenuti con gli **assorbitori di ossigeno+addittivo**. Da rilevare che i campioni con assorbitori e addittivo si sono incuriti nei primi 2 giorni, per la formazione di metmioglobina, ma già al 3° giorno, man mano che i tenori di ossigeno nelle confezioni si approssimavano allo 0%, il colore risulta accettabile e va via via migliorando, man mano che la metmioglobina si convertiva in deossimioglobina. La reazione potrebbe essere accelerata aumentando la dose di antiossidante (ac. ascorbico) che agisce da “*oxygen scavenger*” all'interno del prodotto. Buoni risultati sono stati ottenuti anche con l'atmosfera controllata in presenza di antiossidante (Campione 2). Nonostante le alte concentrazioni di ossigeno, non sono stati percepiti *off-odours* tipici della ossidazione dei lipidi. Per quanto riguarda lo sviluppo di odori anomali, solo il campione C2 risultava inaccettabile per l'odore dopo 13 giorni di conservazione a 3 °C. L'odore percepito è stato definito dagli assaggiatori “ammoniacale”, probabilmente dovuto alla attività proteolitica di *Pseudomonas spp.*, che, come emerso dalle analisi microbiologiche, sono stati rilevati in numero >9x10⁸ in questi campioni. Il colore non risultava accettabile nel campione C2 già al 7° giorno. Al 9° giorno anche il campione 1 non risultava accettabile. Al 13° giorno i campioni con un colore accettabile sono risultati il 2, 3 e 4, in ordine crescente di gradimento.

CONCLUSIONI

Si può concludere che sia l'atmosfera modificata testata che l'uso di assorbitori di ossigeno insieme all'antiossidante possono essere impiegate per prolungare il colore rosso degli hamburger. Lo svantaggio nell'uso degli assorbitori è che il prodotto impiega qualche giorno a virare a un colore rosso accettabile. Inoltre, la creazione di atmosfere prive di ossigeno possono favorire la crescita di patogeni anaerobi. Per facilità di impiego e disponibilità di macchinari, l'atmosfera controllata testata (30%CO₂, 70%O₂) può essere indicata per prolungare la *shelf-life* del prodotto.

Alla luce di questi risultati è stato deciso di effettuare un'altra prova di confezionamento aumentando la percentuale di **acido ascorbico**. L'acido ascorbico ha una funzione antimicrobica, poiché è in grado di abbassare il pH, inoltre ha la capacità di “sequestrare” l'ossigeno atmosferico, si voleva quindi sperimentare il suo effetto in combinazione con gli assorbitori di ossigeno.

Sono state quindi effettuate delle prove preliminari miscelando l'acido ascorbico con la carne macinata, in percentuali che andavano dallo 0,5% fino al 3%. Dopo avere determinato il pH il prodotto cotto è stato e sottoposto all'analisi sensoriale di un gruppo di ricercatori. I risultati hanno indicato che la percentuale ideale era dello 0,5%, per valori superiori si aveva un sapore decisamente troppo acido.

Sono state effettuate anche delle prove preliminari anche con l'ausilio di Gomma Xantano, una fibra utilizzata nelle preparazioni alimentari. Obiettivo era quello di abbassare il valore di attività dell'acqua (a_w) tale da impedire lo sviluppo di alcune classi microbiche. Le prove hanno però confermato che la fibra, anche in basse percentuali (0,5%) conferiva al prodotto sapore di “crusca” mentre non era in grado di abbassare il valore di a_w pur aggiunto in percentuali alte (3%).

Alla luce di questi risultati è stata allestita una prova di confezionamento con i seguenti campioni:

- *Controllo*: hamburger con la ricetta originale e confezionato con film termoretraibile.
- *Controllo acido*: hamburger addizionato dello 0,5% di acido ascorbico, confezionato con film termoretraibile
- *Hamburger in atmosfera modificata*: la carne è stata addizionata dello 0,5% di acido ascorbico e confezionata in ATM presso gli impianti della Porto Conte Ricerche (70% O₂, 30% CO₂).
- *Hamburger con assorbitori di ossigeno*: il prodotto è stato confezionato in atmosfera modificata (65% N₂, 35%CO₂) e all'interno delle vaschette è stato posto l'assorbitore di ossigeno.

Dai risultati però emerso che i campioni probabilmente non corrispondevano a quanto richiesto per la sperimentazione. Infatti, i valori di pH risultavano identici nei campioni aggiunti di acido ascorbico e quelli senza acido ascorbico. Si è proceduti comunque a effettuare le analisi microbiologiche che sostanzialmente confermano quanto visto nella prima prova.

Ulteriori sperimentazioni potrebbero riguardare l'influenza dell'aggiunta di acido ascorbico sulla stabilità del colore. Inoltre, si potrebbe valutare l'uso di **fat replacers** (ad esempio inulina, maltodestrine, proteine del siero) per migliorare la struttura, abbassare l'a_w e migliorare le qualità dietetiche del prodotto, riducendo la percentuale di grassi.

Bibliografia

Berruga, M.I., Vergara H. and Gallego L. 2005. Influence of packaging conditions on microbial and lipid oxidation in lamb meat *Small ruminant research* 57, 257-264
Hunt et. Al. 1991. Guidelines for meat color evaluation. American Meat Science Association
Mancini, R.A., Hunt, M.C., 2005. Current research in meat color. *Meat Science* 71, 100–121

SANGUINELLO

Il sanguinello è un prodotto composto da sangue suino aggiunto di zucchero, uva sultanina, nocciole e cacao a cui vengono aggiunti aromi naturali (cannella e anice) e un conservante (sorbato di potassio E202), il tutto insaccato all'interno di un budello e cotto fino a far rapprendere il sangue. Il prodotto viene attualmente confezionato in atmosfera ordinaria, in un vassoio di polistirolo, avvolto con un film stretch e conservato in condizioni di refrigerazione a 4°C. La problematica principale è lo sviluppo di muffe sulla superficie dopo pochi giorni di conservazione (5 giorni).

Obiettivo del lavoro è stato quello di mettere a punto una tecnologia in grado di prolungare la shelf life del prodotto. Le prove sono state condotte con l'azienda CORAD di Cagliari.

Figura 31. – Sanguinello prodotto dall'azienda in atmosfera ordinaria



Materiali e metodi

Sono state allestite le seguenti prove:

Tesi 1 – Controllo

Il prodotto è stato confezionato con film stretch;

Tesi 2 – Atmosfera modificata

Il sanguinello è stato confezionato presso la Porto Conte Ricerche in vaschette con il 50% di CO₂ e 50% di N₂, chiuse con film plastico ad elevata barriera ai gas e al vapore acqueo;

Tesi 3 – Pastorizzazione

Il prodotto è stato confezionato sottovuoto, con film plastico termoresistente, e successivamente pastorizzato in bacinella di cottura.

Figura 32. – Sanguinello confezionato in atmosfera modificata



Figura 33. – Sanguinello pastorizzato e confezionato con film plastico



I prodotti sono stati conservati a 4°C in cella e analizzati il giorno di produzione e dopo 6, 13, 22 e 31 giorni. Su ciascuna tesi sono state effettuate misure di attività dell'acqua (A_w), di umidità (U%), di pH, di analisi dei gas, strutturali e microbiologiche.

L'umidità è stata determinata mediante il metodo gravimetrico AOAC 925.45 b, mentre la misura di A_w è stata effettuata mediante strumento Aqualab mod. Series 3 della Decagon e il pH con metodo potenziometrico. Tutte le misure sono state eseguite con tre repliche.

Sulle confezioni in atmosfera modificata (MAP) è stata monitorata, in coincidenza delle analisi, la composizione dell'atmosfera dello spazio di testa mediante analizzatore di gas Combi Check 9800-1 (PBI Dansensor).

La caratterizzazione meccanica è stata effettuata mediante Texture Analyser TA.XT2 utilizzando una cella di carico di 25 Kg e come sonda un cilindro in alluminio del diametro di 75 mm. È stato effettuato un test denominato "texture profile analysis", più noto come TPA. L'analisi consiste in una doppia compressione del campione, che simula la masticazione. I parametri presi in considerazione sono la durezza e l'elasticità. Hanno una buona correlazione con i parametri utilizzati nell'analisi sensoriale e quindi possono essere

espressi con gli stessi concetti. La prima è espressa in Kg ed è la forza richiesta per deformare il campione ad una data distanza. L'elasticità, esprime la velocità di recupero dell'altezza originaria dopo una compressione. Le prove sono state svolte su sei repliche per ciascun prodotto, condotte su una sezione circolare di sanguinello dell'altezza di 2 cm, (compresa del rivestimento esterno del budello).

Per quanto riguarda le analisi microbiologiche sono state ricercate le seguenti classi microbiche:

Carica batterica mesofila totale, Coliformi ed *Escherichia coli*, stafilococchi coagulasi-positivi, *Pseudomonas*, lieviti e muffe.

Le analisi microbiologiche sono state ripetute su due campioni per ciascun protocollo.

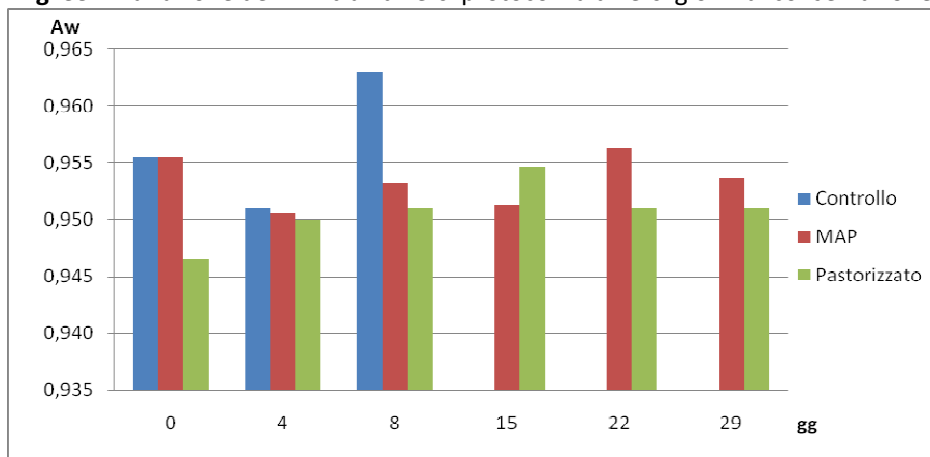
Figura 34. – Analisi microbiologiche. Per le diluizioni decimali è stata impiegata soluzione sterile di Peptone allo 0,1%.

Classi microbiche	Terreni di coltura	Incubazione (T / t)
Carica mesofila aerobia	Plate Count Agar (Oxoid)	30°C / 48 h
Lieviti e muffe	Rose Bengal	25°C / 96 h
Stafilococchi coagulasi-positivi	Baird Parker Agar (Oxoid)	37°C / 48 h
Coliformi e <i>Escherichia coli</i>	Violet Red Bile Agar con Mug	37°C / 48 h
<i>Pseudomonas</i>	<i>Pseudomonas</i> CFC Agar	25°C / 48 h

Risultati

Analisi chimico- fisiche. I campioni esaminati mostrano valori di Aw iniziale compresi tra 0,94 e 0,95. (Fig. 35) Questi dati mostrano una predisposizione del prodotto allo sviluppo microbico e in particolare di lieviti e muffe. I valori di Aw relativi ai diversi protocolli non subiscono variazioni rilevanti nel corso della sperimentazione. L'umidità dei campioni è compresa tra il 62 e il 64%. I campioni esaminati mostrano valori di pH subacidi, compresi tra 6 e 6,5.

Fig. 35 – Variazione dell'Aw tra i diversi protocolli a diversi giorni di conservazione



Analisi microbiologiche. Nella figura 36 sono riportate le conte microbiche dei diversi campioni di sanguinello confezionati in atmosfera modificata (MAP) e sottoposti al trattamento di pastorizzazione oltre ad un campione di controllo costituito dal prodotto aziendale.

Dall'analisi dei dati microbiologici si nota che il fattore che limita la shelf life è sicuramente lo sviluppo di muffe e lieviti sulla superficie esterna del prodotto.

Il campione di controllo (prodotto aziendale) a 0 giorni presenta dei valori di lieviti e muffe elevati ($6,00 \times 10^3$ ufc/g) e tali valori raggiungono rapidamente (8° giorno) valori di $2,50 \times 10^6$ (ufc/g) determinandone la fine delle analisi.

Per il campione confezionato in atmosfera modificata invece, pur partendo da valori simili ($6,73 \times 10^3$ ufc/g) la crescita dei lieviti e muffe è più lenta per cui si raggiungono valori superiori a 10^5 ufc/g solo dopo circa 22 giorni, con un notevole aumento della shelf life.

Relativamente al campione pastorizzato e confezionato in busta sottovuoto, non si ha alcuna crescita microbica per tutta la durata della sperimentazione (29 giorni). Quest'ultimo trattamento, qualora venisse adottato dall'azienda (intervento che richiede scarsi investimenti) risolverebbe tutte le problematiche relative allo sviluppo microbico e consentirebbe di allungare la vita commerciale a 30 giorni, a fronte dei 5 attuali. Anche il trattamento in MAP si è rilevato abbastanza efficace anche se il costo di applicazione è senza dubbio maggiore.

Figura 36 – Conte microbiche riportati come medie Log_{10} (ufc/g) nel sanguinello a diversi giorni di conservazione.

Campione	Giorni	Carica microbica totale	Lieviti e muffe	Pseudomonas
Controllo	0	$6,36 \times 10^1$	$6,00 \times 10^3$	0,00
	4	$1,45 \times 10^2$	$2,82 \times 10^3$	0,00
	8	$8,00 \times 10^3$	$2,50 \times 10^6$	$1,00 \times 10^2$
Pastorizzato	0	4,55	0,00	0,00
	8	4,55	0,00	0,00
	15	4,55	0,00	0,00
	22	9,09	0,00	0,00
	29	0,00	0,00	0,00
Atmosfera modificata	4	$1,36 \times 10^1$	$6,73 \times 10^3$	0,00
	8	$7,73 \times 10^1$	$8,64 \times 10^2$	0,00
	15	$1,33 \times 10^2$	$1,45 \times 10^3$	0,00
	22	$1,04 \times 10^4$	$2,55 \times 10^5$	0,00
	29	$2,41 \times 10^4$	$2,27 \times 10^4$	0,00

Analisi della miscela dei gas. L'analisi della miscela dei gas all'interno delle confezioni (fig. 37) ha evidenziato la presenza per tutto il periodo di analisi di una miscela vicina a quella impostata (50 CO_2 e 50% N_2) e una concentrazione di O_2 residuo variabile tra l'1-2% . L'atmosfera modificata infatti non riesce completamente a sostituire l'aria presente con la miscela di gas impostata. E' forse il limite maggiore di questa tecnologia di confezionamento è che quindi consente lo sviluppo di microrganismi aerobi, in particolare di muffe.

Figura 37 – Composizione dell’atmosfera interna alle confezioni di sanguinello in atmosfera modificata

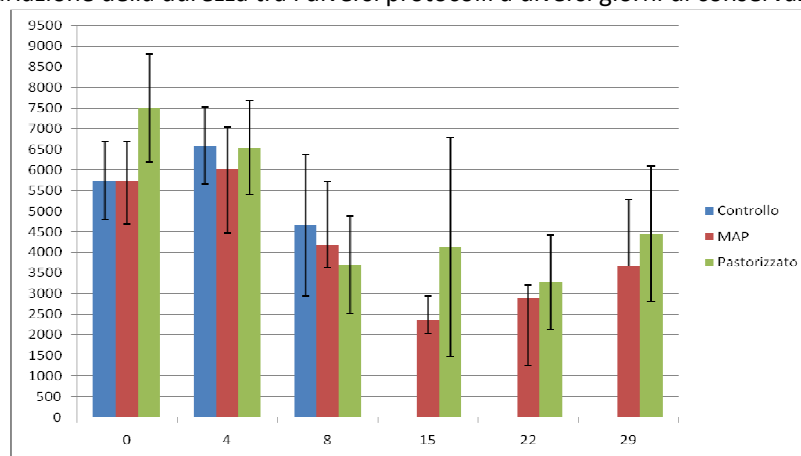
50 CO ₂ :30 N ₂	O ₂	CO ₂	N ₂
MAP 50:50 (0 gg)	0,7	52,8	46,5
MAP 50:50 (4 gg)	1,40	59,90	38,67
MAP 50:50 (8 gg)	0,81	55,96	43,23
MAP 50:50 (15 gg)	0,71	57,59	41,70
MAP 50:50 (22 gg)	1,94	57,26	40,80
MAP 50:50 (29 gg)	0,30	53,40	46,30

Analisi di struttura. L’analisi di TPA (doppia compressione che simula la masticazione) consente di determinare la durezza o hardness del campione (forza necessaria per comprimere un prodotto tra i molari). In fig. 38 sono riportate le variazioni di durezza per ciascuna tesi nel corso della sperimentazione. Nel controllo aziendale i valori di forza (espressi in grammi) tendono ad aumentare nei primi giorni di conservazione (fino a 4 giorni) per poi diminuire nuovamente a 8 giorni. Dall’analisi dell’errore standard (numero che è direttamente correlato alla variabilità della misura ottenuta) i campioni di controllo e di MAP non mostrano differenze significative.

La MAP e il pastorizzato mostrano un andamento simile per tutta la sperimentazione, in quanto i valori di forza tendono a diminuire nel corso dell’analisi (fino al 15mo giorno per la MAP e fino all’8° giorno per il pastorizzato) per poi incrementare, seppur lievemente, sino al termine delle analisi (29° giorno). Le differenze tra i due campioni appaiono significative solo al 15mo giorno di analisi. A parte i primissimi giorni di conservazione (0-4 giorni) i prodotti della MAP e del pastorizzato, sembra che perdano un po della loro consistenza iniziale e diventino più morbidi.

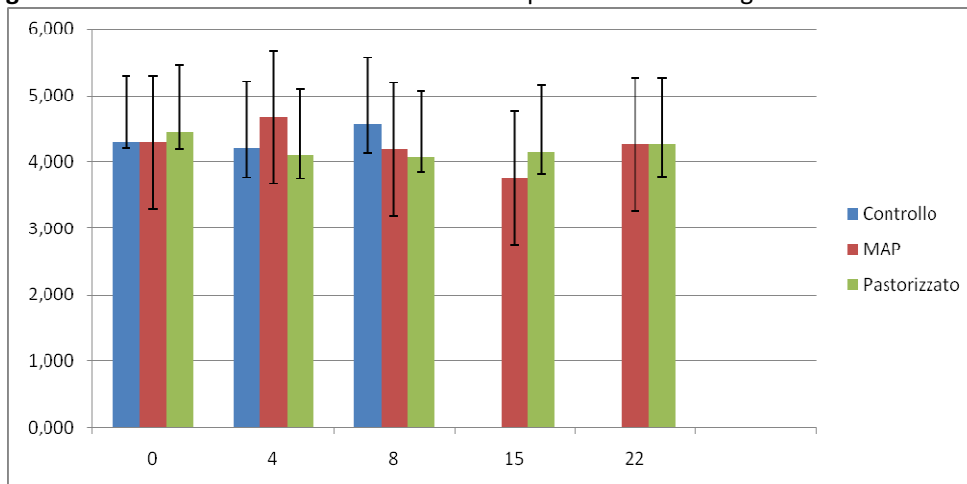
Un aspetto che va considerato è che i campioni analizzati presentano una elevata disomogeneità dovuta soprattutto alla consistenza interna del ripieno (maggiore o minore presenza di canditi o di nocciole) e questo può influire notevolmente sulla variazioni di durezza prese in esame.

Fig. 38 – Variazione della durezza tra i diversi protocolli a diversi giorni di conservazione



In fig. 39 sono riportate le variazioni di elasticità per ciascuna tesi nel corso della sperimentazione. Dall'analisi dei dati non emergono differenze significative nei valori di elasticità tra le diverse tesi, segno evidente che tutti i campioni analizzati mostrano la stessa capacità di recuperare la loro altezza e forma originaria dopo la compressione.

Figura 39 – Variazione dell'elasticità tra i diversi protocolli a diversi giorni di conservazione



Conclusioni

Le prove effettuate in questa sperimentazione (pastorizzazione e atmosfera modificata) hanno consentito di eliminare o limitare lo sviluppo microbico con un conseguente incremento della shelf life dei campioni. In particolare il prodotto pastorizzato è quello che presenta la carica microbica più bassa, quasi nulla, fino ai 30 giorni dal confezionamento. Tutti gli altri valori analizzati, quali la struttura, il pH, l'umidità, erano simili agli altri campioni e questo significa che il trattamento al quale il prodotto è stato sottoposto non ha provocato uno scadimento della qualità rispetto al prodotto aziendale. Anche il confezionamento in atmosfera modificata si è rilevato abbastanza efficace nel controllare la carica microbica e prolungare la shelf life, anche se dopo il 15 mo giorno si è avuto un incremento nel numero dei lieviti e delle muffe.

TRIPPA

Il termine trippa è ritenuto di derivazione araba *tarb*; ma è più probabile la sua derivazione dal tedesco antico *traben*. In un documento medioevale del 1319, esistente a Verona si citano “*budellas... tripes*”. In altri documenti toscani della fine del Trecento la trippa acquista il suo nome attuale.

Nel XV secolo Luigi Pulci la chiama “trippaccia”. Nel XV secolo il Maestro Martino, celebre cuoco autore del “*Liber de arte coquinaria*” (1464-65), consegnò la ricetta a Bartolomeo Scappi (altro famoso cuoco rinascimentale, del quale, oltre ciò che si apprende dalla sua opera, si sa poco) che ne favorì la diffusione. Nel 1554 il medico milanese Ortensio Laudo scrive “*Goderai a Trevigi, trippe e gamberi del Sile, de’ quali quanto più ne mangi più ne mangeresti*” (a Treviso godrai della trippa e dei gamberi del Sile, ecc..., dal “*Bariletto*”). Della trippa hanno, poi, trattato diversi autori toscani, quali Renato Stoppani, recentemente Giampiero Nigro nell’opera “*L’alimentazione in età preindustriale*” (Fondazione Istituto Internazionale di Storia Economica “F. Datini”, Prato 1999), Leo Codacci e, soprattutto, Indro Neri nel suo volume enciclopedico “*Troppa trippa: sull’antico mestiere del trippaio a Firenze ed i mille modi di cucinare la trippa nel mondo*” (INDRO NERI, Ed. Centopelli, Firenze 1998).

La trippa comunemente detta non è altro che parte dell’apparato digerente del bovino formato da tre prestomaci, nei quali i foraggi ingeriti dopo una affrettata masticazione sostano per essere poi ruminati. Essi sono:

1. il *rumine* o *panzone*, enorme serbatoio della capacità di 100-150 litri nei bovini adulti, con numerose papille;
2. il *reticolo* o *cuffia*, di forma globosa, ha la capacità di 6-7 litri nei grandi ruminanti;
3. l’*omaso* o *libro* o *foglietto* o *centopelli*, che ricorda le pagine di un libro.

Essi comunicano fra loro per mezzo di una doccia che segue l’esofago, detta per l’appunto esofagea, fino ad arrivare allo stomaco propriamente detto, cioè l’*abomaso* o *caglio* o quarto stomaco, dove avviene la vera digestione gastrica.

Questo ha la forma di un sacco allungato della capacità di 12-13 litri nei bovini adulti.

Dal punto di vista merceologico la trippa può essere di manza di vitello, oppure di vitello.

Nella storia la trippa ha sempre rappresentato un alimento gradito dalle classi meno abbienti e si hanno notizie che già gli antichi greci consumavano la trippa (probabilmente di pecora o di capra) arrostita sulle braci. Nel passato meno remoto era difficoltoso reperire la trippa già pulita pronta per essere cucinata, poiché tutto dipendeva dal macellaio o dal trippaio che con maestria provvedevano manualmente alle operazioni di pulizia e sgrassatura.

Oggi queste lavorazioni sono svolte a livello di industrie specializzate, risultando così in una gamma di prodotti comprendenti sia la trippa (rumine e reticolo) che il foio (omaso), forniti crudi o cotti, sia a pezzatura intera che già tagliati a listelle, confezionati sottovuoto.

Figura 40. – Trippa tagliata a listelle



Figura 41. – Trippa confezionata dall'azienda con film stretch in atmosfera ordinaria



La trippa prima di essere confezionata è stata sottoposta al trattamento di cottura, per immersione in acqua in ebollizione per 2 ore. È stata quindi immersa in acqua fredda, a 3°C per 20 minuti, dopodiché sono state effettuate le seguenti prove:

La trippa è stata immersa in acqua fredda (3°C) e lasciata in cella a 4-5°C per 24 ore. Dopo averla tolta dall'acqua è stata lasciata sgocciolare per 1 ora a 7-8°C e tagliata a listelle. Successivamente è stata confezionata in vaschette avvolte con film PVC ed in buste sottovuoto.

La trippa è stata messa in una soluzione fredda (3°C) di acido citrico e ascorbico, quindi posta in cella a 4-5°C per 24 ore. Dopo averla tolta dalla soluzione è stata lasciata sgocciolare per 1 ora a 7-8°C e tagliata a listelle. Successivamente è stata confezionata in vaschette avvolte con film PVC ed in buste sottovuoto.

Dopo la cottura la trippa è stata fatta subito raffreddare a 3°C per 20 minuti, quindi è stata lasciata sgocciolare per 1 ora a 7-8°C e tagliata a listelle. Il prodotto è stato posto in vaschetta e confezionato sottovuoto in buste resistenti alle alte temperature. Si è proceduto alla pastorizzazione mediante immersione in bacinella di cottura per 30' circa.

I prodotti sono stati conservati a 4°C in cella e analizzati il giorno di produzione e dopo 6, 13, 22 e 31 giorni. Su ciascuna tesi sono state effettuate misure di pH e microbiologiche. Per quanto riguarda i valori di pH, la trippa di controllo aziendale presenta un valore intorno a 7,5 mentre quella in soluzione acida mostra un pH leggermente più acido (6,5). Sono state effettuate le seguenti analisi microbiologiche (figura 42): carica mesofila totale, coliformi ed *Escherichia coli*, stafilococchi coagulasi-positivi, lieviti e muffe, *Pseudomonas*.

Figura 42. – Analisi microbiologiche. Per le diluizioni decimali è stata impiegata soluzione sterile di Peptone allo 0,1%.

Classi microbiche	Terreni di coltura	Incubazione (T / t)
Carica mesofila aerobia	Plate Count Agar (Oxoid)	30°C / 48 h
Lieviti e muffe	Rose Bengal	25°C / 96 h
Stafilococchi coagulasi-positivi	Baird Parker Agar (Oxoid)	37°C / 48 h
Coliformi e <i>Escherichia coli</i>	Violet Red Bile Agar con Mug	37°C / 48 h
Pseudomonas	Pseudomonas CFC Agar	25°C / 48 h

Le analisi microbiologiche sono state ripetute su due campioni per ciascun protocollo.

Sulle confezioni in atmosfera modificata (MAP) è stata monitorata, in coincidenza delle analisi, la composizione dell'atmosfera dello spazio di testa mediante analizzatore di gas Combi Check 9800-1 (PBI Dansensor).

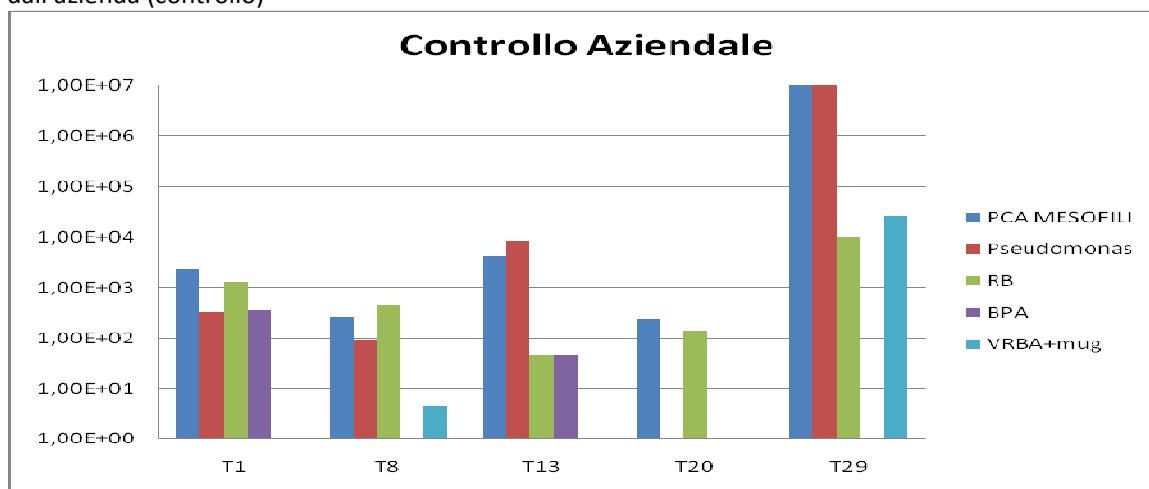
Risultati

Analisi microbiologiche. Inizialmente sul prodotto aziendale (confezionato in vaschetta in atmosfera ordinaria e avvolto con un film stretch) sono state eseguite delle analisi microbiologiche volte a determinarne la durata commerciale (shelf life). Dai dati delle analisi microbiologiche, riportati in figura 43 si nota che la carica microbica totale (CMT) al giorno di produzione è pari a $2,27 \times 10^3$ ufc/g e che questo valore si mantiene stabile o leggermente inferiore sino al 20mo giorno $2,27 \times 10^2$ ufc/g per poi aumentare notevolmente al tempo di analisi successivo (29mo giorno) con valori di 10^7 ufc/g. Anche i valori relativi alle altre classi microbiche hanno mostrato un andamento simile. Si può ritenere che il prodotto aziendale (controllo) conservato in condizioni di refrigerazione (4 °C) ha una durata commerciale di circa 20 giorni.

Tab. 43 – Conte microbiche riportati come medie Log_{10} (ufc/g) nella trippa prodotta dall'azienda (controllo)

	Carica microbica totale	Stafilococchi	Lieviti e muffe	Coliformi	Pseudomonas
Controllo (0 gg)	$2,27 \times 10^3$	$3,64 \times 10^2$	$1,27 \times 10^3$	0,00	$3,18 \times 10^2$
Controllo (8 gg)	$2,68 \times 10^2$	0,00	$4,55 \times 10^2$	4,55	$9,09 \times 10^1$
Controllo (13 gg)	$4,25 \times 10^3$	$4,55 \times 10^1$	$4,55 \times 10^1$	0,00	$8,36 \times 10^3$
Controllo (20 gg)	$2,27 \times 10^2$	0,00	$1,36 \times 10^2$	0,00	0,00
Controllo (29 gg)	$1,00 \times 10^7$	0,00	$9,82 \times 10^3$	$2,27 \times 10^4$	$1,00 \times 10^7$

Figura 44 – Evoluzione delle conte microbiche riportati come medie Log_{10} (ufc/g) nella trippa prodotta dall'azienda (controllo)



La seconda prova sperimentale ha avuto come oggetto lo studio della shelf life dei campioni di trippa descritti in precedenza (controllo e acidificato, tesi 1 e 2) confezionati in atmosfera ordinaria e sottovuoto, oltre al campione pastorizzato e confezionato sottovuoto con film plastico termoresistente (tesi 3).

Dai dati delle analisi microbiologiche, riportati in figura 45, si nota subito che la pastorizzazione elimina la microflora presente sul prodotto. A partire dal giorno di produzione e sino al 31mo giorno (termine della sperimentazione) non si è avuto alcun sviluppo microbico, per cui il prodotto è salubre e può essere commercializzato per un periodo di tempo maggiore rispetto alle altre tesi (controllo e soluzione acida).

I dati microbiologici relativi ai campioni di controllo e in soluzione acida confezionati in atmosfera ordinaria (con film PVC) sono abbastanza simili, e tendono ad aumentare progressivamente nel corso della sperimentazione, raggiungendo a 13 giorni valori di conta batterica totale maggiori di (10^7 ufc/g). Anche la contaminazione di pseudomonas, di coliformi e di lieviti e muffe, risulta elevata, per cui a 13 giorni si è deciso di terminare le analisi. Gli stessi campioni (controllo e in soluzione acida) confezionati sottovuoto, mostrano a 13 giorni delle cariche di conta batterica totale leggermente inferiori, ma non tali da poterne allungare la durata commerciale. Da questi dati si può ritenere che le soluzioni adottate per il confezionamento non hanno sortito effetti positivi sulla shelf life.

Sulla base di questi dati si può ritenere che la tecnologia migliore è quella che prevede la pastorizzazione, la quale consente di risolvere le problematiche legate allo sviluppo microbico e di incrementare la shelf life.

Figura 45 – Conte microbiche riportati come medie Log_{10} (ufc/g) nella trippa sottoposta a diversi sistemi di conservazione.

	Carica microbica totale	Stafilococchi	Lieviti e muffe	Coliformi	Pseudomonas
Controllo (0 gg)	$2,13 \times 10^3$	0,00	0,00	5,00	$9,55 \times 10^2$
Soluz. acida (0 gg)	$4,59 \times 10^3$	$9,09 \times 10^1$	$2,27 \times 10^2$	$9,09 \times 10^1$	$1,09 \times 10^3$
Pastorizzazione (0 gg)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Controllo sottovuoto (6 gg)	$2,75 \times 10^4$	$1,05 \times 10^3$	$1,82 \times 10^2$	$2,27 \times 10^1$	$3,75 \times 10^4$
Controllo atm. ordinaria (6 gg)	$4,90 \times 10^4$	$3,73 \times 10^3$	$1,32 \times 10^3$	$1,82 \times 10^1$	$>1,00 \times 10^5$

Soluz. acida sottovuoto (6 gg)	3,70Ex10 ³	4,55 x10 ¹	5,45x10 ²	0,00	8,50x10 ³
Soluz. acida atm. ordinaria (6 gg)	1,53x10 ⁴	1,82x10 ²	5,00x10 ²	0,00	3,26x10 ⁴
Pastorizzazione (6 gg)	1,36x10 ¹	0,00	0,00	0,00	0,00
Controllo sottovuoto (13 gg)	>1,00x10 ⁷	0,00	1,27x10 ³	>1,00x10 ⁵	1,60x10 ⁷
Controllo atm. ordinaria (13 gg)	>1,00x10 ⁷	0,00	4,64x10 ³	2,58x10 ⁴	>1,00x10 ⁷
Soluz. acida sottovuoto (13 gg)	3,25x10 ⁶	0,00	1,60x10 ⁴	2,18x10 ²	2,97x10 ⁶
Soluz. acida atm. ordinaria (13 gg)	>1,00x10 ⁷	0,00	5,59x10 ³	5,80x10 ⁴	>1,00x10 ⁷
Pastorizzazione (13 gg)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Pastorizzazione (22 gg)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Pastorizzazione (31 gg)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Figura 46 – Evoluzione delle conte microbiche riportati come medie Log₁₀ (ufc/g) nella trippa di controllo sottoposta a due tipologie di confezionamento.

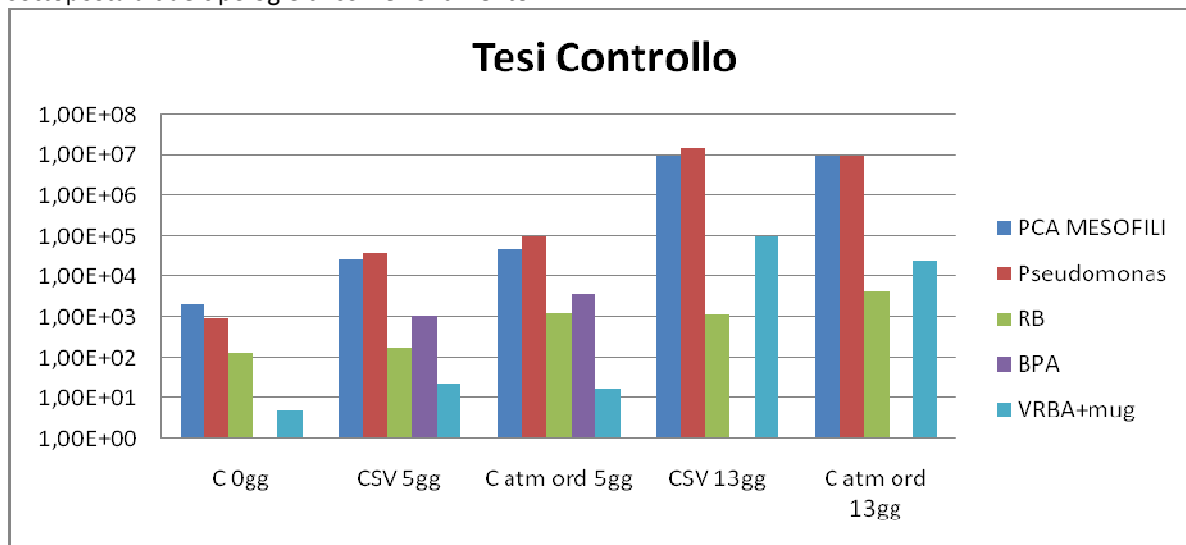


Figura 47– Evoluzione delle conte microbiche riportati come medie Log₁₀ (ufc/g) nella trippa immersa in soluzione acida e sottoposta a due tipologie di confezionamento.

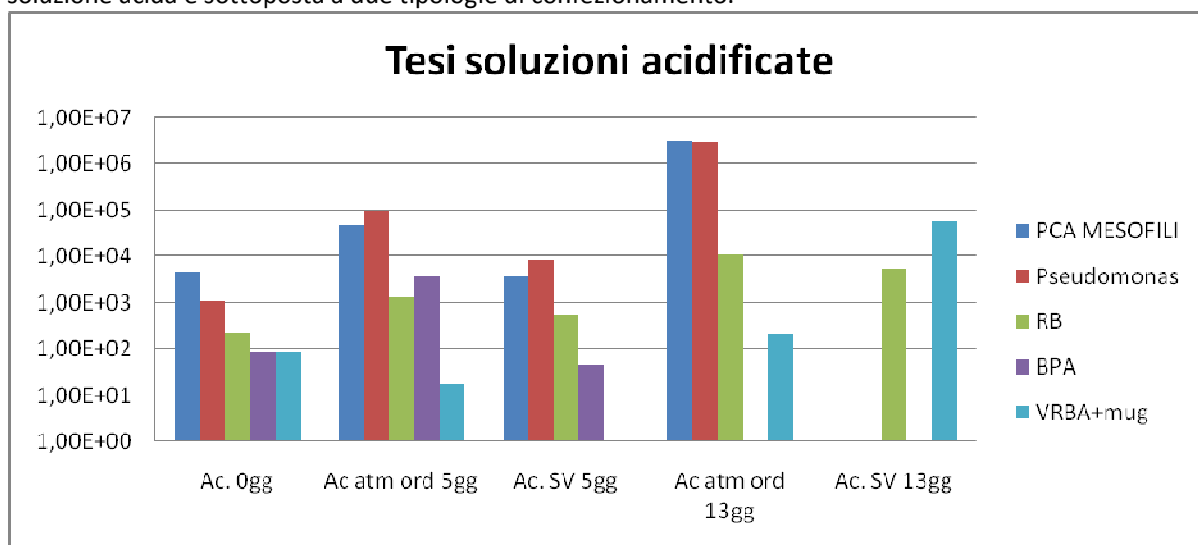


Figura 48 – Conte microbiche riportati come medie Log₁₀ (ufc/g) nella trippa sottoposta a diversi sistemi di conservazione.

	Carica microbica totale	Stafilococchi	Lieviti e muffe	Coliformi	Pseudomonas
Controllo (0 gg)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Controllo (7 gg)	4,55	0,00	0,00	0,00	0,00
MAP 30:70 (7 gg)	4,55	0,00	0,00	0,00	0,00
MAP 70:30 (7 gg)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Controllo (15 gg)	1,82x10 ¹	0,00	0,00	0,00	9,09x10 ²
MAP 30:70 (15 gg)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
MAP 70:30 (15 gg)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Controllo (28 gg)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
MAP 30:70 (28 gg)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
MAP 70:30 (28 gg)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Controllo (41 gg)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
MAP 30:70 (41 gg)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
MAP 70:30 (41 gg)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Nella parte conclusiva del progetto, su richiesta dell'azienda, è stato provato anche il confezionamento in atmosfera modificata.

Figura 49. – Campioni di trippa confezionati in atmosfera modificata



I prodotti forniti dall'azienda in vaschetta e confezionati in atmosfera ordinaria con film stretch, sono stati confezionati nei nostri laboratori in atmosfera modificata con due differenti miscele di gas 30 O₂:70 N₂ e 70 CO₂:30 N₂. La prima miscela è quella normalmente contenuta nelle bombole premiscelate e che trova ampio utilizzo in molti prodotti mentre per la seconda si è voluto provare una miscela con una concentrazione elevata di CO₂.

I prodotti sono stati conservati a 4°C in cella ed analizzati il giorno di produzione e dopo 7, 15, 28 e 41 giorni.

Dai risultati microbiologici (figura 48) si evince che per tutti i tempi di analisi (fino a 41 giorni) non si è verificata alcuna crescita microbica sia sul controllo che su entrambe le tesi di MAP.

Il risultato parrebbe straordinario, ma intervistando l'azienda sulle modalità di lavorazione del campione fornito, ci è stato comunicato che il prodotto è stato sottoposto ad un lavaggio preventivo con una soluzione di acqua ossigenata (H₂O₂) e che quindi lo ha preservato da eventuali contaminazioni microbiche. La soluzione di acqua ossigenata (perossido di Idrogeno) è uno sbiancante ed è un disinfettante efficace che uccide i microrganismi tramite ossidazione, tuttavia il suo utilizzo non è consentito nell'industria alimentare.

Analisi della miscela dei gas. I dati relativi alla composizione delle miscele dei gas sono riportati in figura 50.

Figura 50 – Composizione dell'atmosfera interna alle confezioni di trippa in atmosfera modificata

	O ₂	CO ₂	N ₂
MAP 30:70 (7 gg)	2,37	46,3	51,33
MAP 70:30 (7 gg)	1,88	14,3	83,82
MAP 30:70 (15 gg)	1,89	12,1	86,1
MAP 70:30 (15 gg)	2,36	40,5	57,14

MAP 30:70 (28 gg)	1,78	17,1	81,1
MAP 70:30 (28 gg)	2,44	38,7	58,9
MAP 30:70 (41 gg)	2,01	14,3	83,7
MAP 70:30 (41 gg)	2,37	31,3	66,3

Conclusioni

Da queste prove sperimentali, appare evidente che la qualità iniziale del prodotto e il trattamento che esso subisce prima del confezionamento (soluzione acidificata o lavaggio con acqua ossigenata o trattamento di pastorizzazione) influisce chiaramente sulla durata commerciale della trippa.

Dal punto di vista della tecnologia possiamo ritenere che il sistema migliore di condizionamento e confezionamento del prodotto è quello che prevede la pastorizzazione, il quale consente di risolvere le problematiche legate allo sviluppo microbico, con un notevole incremento della shelf life (oltre 30 giorni) e che può essere applicato dall'azienda con investimenti minimi (semplice cottura in bacinella di cottura post confezionamento).

La prova relativa alla MAP andrebbe ripetuta senza eseguire lavaggi della trippa con acqua ossigenata, tuttavia in linea generale si può affermare che consente di prolungarne la shelf life ma presenta dei limiti applicativi (presenza di ossigeno residuo all'interno delle confezioni) oltre che costi elevati (acquisto della macchina, bobine di film, bombole di gas ecc) che andranno opportunamente valutati dall'azienda.

SAVOIARDI

I savoiardi prendono il nome dalla regione originaria della Savoia dall'antico regno Sabauda, la Sardegna. Sono dei biscotti dolci e leggeri dalla consistenza molto friabile e spugnosa. La forma, un cilindro schiacciato con gli spigoli smussati, ricorda un grosso dito e per questa ragione in inglese vengono chiamati *lady fingers*, cioè *dita di dama*. La loro origine viene fatta risalire al tardo XV secolo, quando furono creati presso la corte dei Duchi di Savoia in omaggio ad una visita del re di Francia.

Il savoiardo viene prodotto in tutta la Sardegna, ma quello tradizionale ossia quello “le cui procedure di lavorazione, conservazione e stagionatura risultano consolidate nel tempo e comunque per un periodo non inferiore ai 25 anni”, e per tale motivo, iscritto ai sensi del D.L. n. 173/98 e del D.M. 350/99 è, il biscotto di Fonni (figura 51)



Figura 51 – Savoiardi

Il savoiardo ha una *shelf life* variabile di 2-3 mesi, a seconda del processo produttivo e della tipologia di confezionamento adottato dalle imprese partecipanti al cluster.

Le problematiche maggiori riguardano la presenza di muffe (in alcuni casi già dopo circa 2 mesi) e l'indurimento.

L'obiettivo del lavoro era quello di estendere la *shelf life* del prodotto e di mettere a punto dei sistemi di confezionamento appropriati per il savoiardo.

I savoiardi, della lunghezza di 16 cm circa, sono stati prodotti presso le aziende aderenti al progetto, per essere poi confezionati con le seguenti metodologie:

Prova 1 Oxygen scavengers. Questa tipologia di confezionamento è detta “*active packaging*”. Sulla parte interna della confezione viene fatto aderire un sacchetto adesivo, che contiene delle sostanze naturali che legano l'ossigeno residuo presente nella confezione.

Prova 2 Atmosfera Ordinaria

In figura 52 si presentano i valori di permeabilità dei film impiegati nel confezionamento dei savoiardi. Per la prova 1 è stato impiegato un film con bassi valori di permeabilità all'ossigeno ed al vapor d'acqua, mentre per la prova 2 il film era poco permeabile al vapor d'acqua, ma non all'ossigeno

Figura 52 – Valori di permeabilità dei film impiegati nel confezionamento dei prodotti

	Prova 1	Prova 2
WVTR g*24h ⁻¹ m ⁻² a 38°C	9	4
OTR cm ³ *24h ⁻¹ m ⁻² bar ⁻¹ a 23°C	5	200

Le confezioni di savoiardi sono stati conservati in cella a temperatura di 20°C e umidità del 60% circa, nei laboratori della Porto Conte Ricerche. Sono state effettuate analisi di a_w , umidità e di struttura (*puncture test* e TPA). La percentuale dei gas nelle confezioni è stata monitorata con lo strumento Combi Check. Le analisi sono state condotte a cadenza settimanale dal giorno di produzione fino al 60^{mo} giorno.

I risultati mostrano valori di a_w prossimi allo 0,75 e non si registrano variazioni nel tempo. I valori di umidità del prodotto sono del 13-14%, non si sono avuti fenomeni di disidratazione del prodotto durante la sperimentazione.

Per le analisi di *texture* sono stati monitorati i parametri di TPA e di *puncture test*. I dati, come mostra la figura 53, mostrano la tendenza del prodotto al raffermamento, più accentuato negli ultimi tempi di analisi.

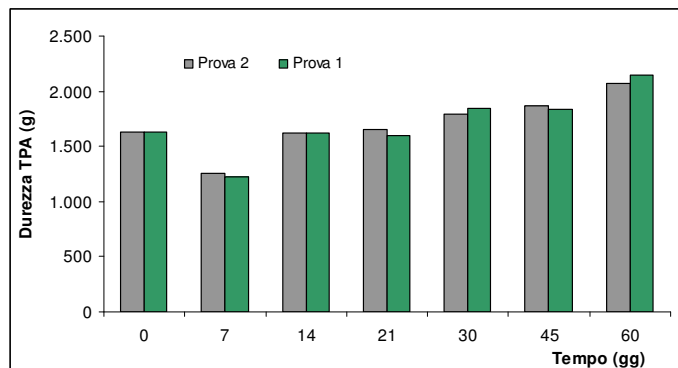


Figura 53- Raffermamento del savoiardo in funzione del tempo

Tra le due tesi non si evincono differenze significative.

La differenza più importante si ha nella concentrazione dei gas: nella prova 1 infatti non è presente ossigeno, mentre nella prova 2 la concentrazione è uguale a quella atmosferica, infatti a 60 giorni sui campioni si sono sviluppate le muffe solo nella tesi numero 2. Nelle confezioni con all'interno l'assorbitore di ossigeno non si è invece osservato sviluppo di muffe, infatti l'ossigeno all'interno della confezione era assente già al secondo giorno di confezionamento.

In conclusione la migliore tipologia di confezionamento per i savoiardi è sicuramente quella con assorbitori di ossigeno più film a bassa permeabilità ai gas, questa modalità di confezionamento ha impedito lo sviluppo delle muffe ed ha mantenuto invariate le caratteristiche qualitative del prodotto tra le tesi.

AMARETTI

Gli amaretti sono un prodotto dolciario tipico della Sardegna. Sono preparati impastando mandorle dolci e amare tritate, zucchero ed albume d'uovo. L'amaretto ha un sapore caratteristico di mandorla amara ed è caratterizzato da una crosta croccante e da una parte interna più soffice a diverso contenuto di umidità. I maggiori fenomeni che pregiudicano la qualità di questo prodotto sono principalmente: l'indurimento, sia della crosta che dell'interno, la distribuzione dell'acqua tra i componenti ed in alcuni casi lo sviluppo di muffe.

L'indurimento è correlato alla disidratazione che il prodotto subisce durante il periodo di conservazione, ma anche dal movimento di molecole d'acqua tra le parti del dolce (Kulp, Olewnik & Lorenz, 1993). Un altro fenomeno alla base del raffermamento è la cristallizzazione del saccarosio (Labuza et al. 2002), ovvero dopo la cottura e durante tutto il periodo di conservazione la molecola dello zucchero cambia conformazione rilasciando molecole d'acqua che è libera di muoversi nella matrice del dolce. Piga et al. 2005 dimostrano come il confezionamento può giocare un ruolo chiave nel limitare gli effetti della disidratazione. Film con bassa permeabilità al vapore d'acqua mantengono valori di umidità del prodotto più costante, garantendo una maggiore qualità.

Anche i problemi microbiologici sono correlati alle caratteristiche chimiche del prodotto, in particolare ai suoi valori di a_w ottimali per lo sviluppo fungino. Spesso, per rimediare a questa problematica, le aziende ricorrono ad additivi di sintesi che ne inibiscono la proliferazione. Questa pratica però non è vista di buon occhio né dai produttori né tanto meno dai consumatori. Una soluzione è rappresentata dall'impiego di sostanze di origine naturale (umettanti) che abbiano la capacità di legare chimicamente l'acqua (*water-binding properties*) (Encyclopedia of Food Science Food Technologies And Nutrition, Kinsella and Whitehead, 1989) in modo da sottrarla al fabbisogno microbico. Tra le più impiegate si ritrovano le *dairy powders* che uniscono l'effetto *water-binding* ad un miglioramento della consistenza del prodotto finale.

Test di stabilità della schiuma

Molti prodotti soprattutto del settore dolciario annoverano tra gli ingredienti l'albume d'uovo. I componenti nutritivi principali sono: proteine, lipidi, vitamine e sali minerali oltre all'acqua contenuta per l'84-89%. Spesso l'albume è montato a neve per migliorare la sofficità e le caratteristiche organolettiche del prodotto finale. Nella fase di montatura si forma una schiuma (*foam*) le cui proprietà sono alla base delle caratteristiche del prodotto finale. Durante il processo di montatura, particelle di aria vengono inglobate all'interno della superficie formando delle bolle. Questo processo è seguito da una modifica configurazionale delle proteine, e successivamente da una perdita di solubilità o da precipitazione di alcune di esse che si raccolgono nell'interfaccia liquido-aria. Si ottiene così una riduzione della tensione superficiale che facilita la formazione di nuove interazioni e un numero crescente di bolle. Queste molecole parzialmente denaturate si associano per formare un film stabilizzante intorno alle bolle che risulta essere essenziale per la stabilità della schiuma. Proprio questa caratteristica è una delle proprietà principali. Tra i processi principali che determinano la stabilità di una schiuma e che danno il collasso della struttura ritroviamo il *film drainage*, ovvero l'acqua che drenando rimuove il film di proteine che costituisce lo scheletro della schiuma, arrivando al collasso della stessa.

La stabilità è funzione del tempo e della velocità di montatura e nel presente studio è stata valutata in accordo con la metodologia di Phillips et al (1987) e prendendo come parametro il drenaggio, ovvero la quantità di albume che a seguito del processo di montatura drena. La *foam stability* è stata misurata come il tempo richiesto perché il 50% in peso della schiuma drena (Halling 1981). È stata valutata inoltre il quantitativo di drenato nei primi 30 minuti, che rappresenta il tempo massimo entro il quale l'albume montato a neve viene impastato durante la preparazione dei dolci.

La sperimentazione aveva lo scopo di verificare per quale tempo di montatura, si ha un albume montato a neve più stabile. Per questo gli albumi sono stati montati con un frullatore a velocità 2 per 5, 10 e 15 minuti. A fine processo, gli albumi montati sono stati versati in vaschette forate riposte su dei sostegni ed inclinate di 45°C, per agevolare il drenaggio verso una vaschetta sottostante dove veniva raccolto.

Tempo di sbattitura (min)	Tempo (min) 50%	Drenaggio (g) 30 minuti
5	126	21,95
10	112	5,35
15	94	9,58

Figura 54 – Drenaggio dell’albume

Come si evince dalla figura 54 il tempo necessario al drenaggio del 50% dell’albume montato è stato maggiore per i 5 minuti di sbattitura, ma la quantità in grammi di albume che drena nei primi 30 minuti risulta essere inferiore per un tempo di sbattitura pari a 10 minuti.

Considerato che durante la preparazione degli impasti dei prodotti dolciari le fasi sono temporalmente molto ravvicinate, il valore ottimale di sbattitura sono 10 minuti a velocità 2.

Effetti della schiuma sulle caratteristiche del prodotto

Dalle interviste effettuate alle aziende riguardo le ricette, ed i processi produttivi, è emersa una differenza nella fase di preparazione degli ingredienti negli amaretti: alcune aziende impastano gli ingredienti con l’albume d’uovo fresco montato a neve altre non montano a neve l’albume e impiegano albume d’uovo pastorizzato.

Allo scopo di verificare quale impatto avesse sul prodotto finito e sulle sue caratteristiche qualitative la montatura degli albumi, sono stati preparati due impasti dove l’unica differenza stava proprio nel montare (MN) o meno gli albumi (NMN).

Sugli impasti sono state effettuate le analisi di a_w e di umidità, che mostrano risultati simili, rispettivamente 0,845 e 18,30%. I prodotti sono stati cotti e a seguito del raffreddamento sono stati confezionati in pellicola di alluminio, per ridurre al minimo i fenomeni di disidratazione del prodotto. La conservazione è stata eseguita in cella termostata alla temperatura di 20°C. Le analisi di a_w , umidità e di puncture test sono state effettuate a 1, 7, 14, 21, 30 e 40 giorni dalla produzione.

Come già detto la caratteristica qualitativa più importante degli amaretti è la sofficità della parte interna, correlata alla quantità d’acqua in essa contenuta ed alle sue migrazioni. Per questo motivo le analisi di a_w e di umidità sono state eseguite sia sulla parte superficiale che sulla parte interna proprio per evidenziare eventuali spostamenti d’acqua.

Dai risultati analitici si evince che i valori di a_w hanno la tendenza a crescere nel tempo. Questo comportamento è legato al fenomeno della cristallizzazione del saccarosio, il quale durante il periodo di stoccaggio tende a mutare la sua conformazione molecolare cedendo acqua libera incrementandone quindi il suo valore. I campioni MN hanno valori iniziali di a_w superiori rispetto a NMN. Durante la sperimentazione i valori incrementano, ma in maniera inferiore nel MN sia nella parte interna che nella crosta. Il confronto tra i dati della crosta e della parte interna evidenzia come col passare del tempo ci sia la tendenza ad avere valori simili.

I dati di umidità evidenziano come i valori della crosta sono sempre inferiori a quelli della parte interna, questo si traduce in una maggiore morbilità interna ed in una croccantezza superficiale. Nel corso della sperimentazione NMN ha evidenziato valori superiori e crescenti nel tempo rispetto a MN dove i valori si mantengono stabili.

Per quanto riguarda le analisi di struttura è stata presa in considerazione la resistenza opposta dalla parte interna del dolce alla penetrazione della sonda, di seguito definita come durezza. I valori di durezza (Fig. 55) della parte interna sono simili (nonostante l’umidità di NMN sia maggiore) eccetto l’ultima tempo dove NMN subisce un incremento di durezza molto marcato. Dalla rielaborazione statistica inoltre si evince come la deviazione standard dei dati ottenuti sia sempre superiore nel NMN che denota un maggiore disomogeneità nei campioni.

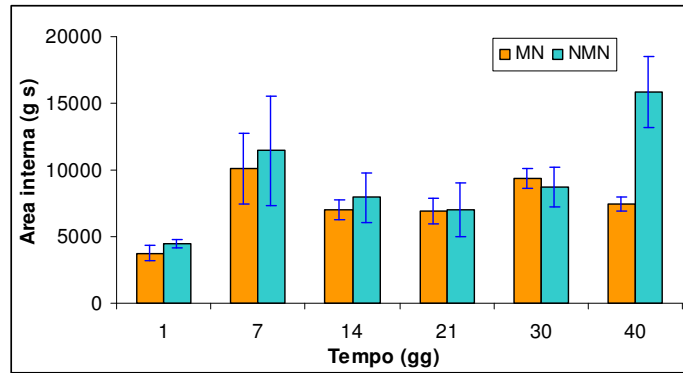


Figura 55- Resistenza opposta in funzione del tempo

Per quanto riguarda la durezza superficiale non si evincono differenze tra le due tesi.

In conclusione dai dati ottenuti è stato valutato migliore il prodotto MN (albume montato a neve) in quanto i campioni risultano essere più omogenei come confermano le analisi di struttura, inoltre i valori di a_w finali sono risultati essere inferiori.

Prove sui tempi di impasto

Con questa prova si è voluto valutare l'effetto del latte in polvere (nome commerciale Alim 45) sul prodotto finito e stabilire a che tempi deve essere aggiunto all'impasto. Sono stati preparati amaretti eseguendo le seguenti procedure:

Prova 1: mandorle e zucchero sono state impastate con l'albume d'uovo montato a neve per 7 minuti, quando è stato aggiunto il latte in polvere, il tutto è stato omogeneizzato per altri 3 minuti.

Prova 2: mandorle, latte in polvere e zucchero sono state impastate con l'albume d'uovo montato a neve per 10 minuti.

Prova C: mandorle e zucchero sono state impastate con l'albume d'uovo montato a neve per 10 minuti. L'ipotesi si aggiungere il latte in polvere direttamente all'albume non è stata presa in considerazione in quanto l'alta concentrazione di lattosio e l'igroscopicità del latte in polvere destabilizzerebbe la schiuma impedendone la formazione (Hanning 1945; Standelman & Cotterill 1994).

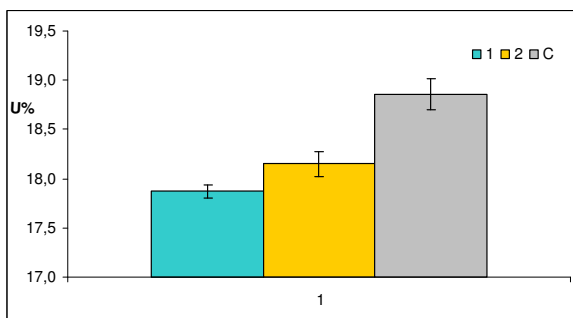


Figura 56- Variazione dell'umidità

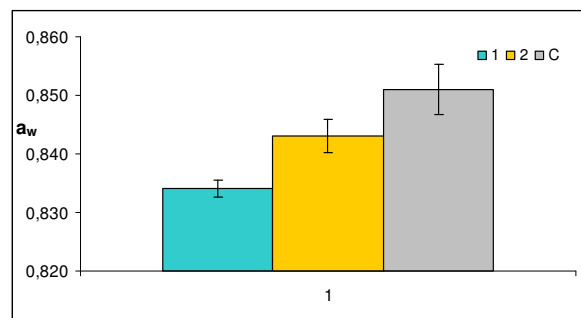


Figura 57- Variazione dell' a_w

A seguito della fase di impasto sono stati valutati i valori di a_w e di umidità degli impasti. La figura 56 mostra come l'impiego dell'umettante riduce significativamente i valori di umidità nei campioni 1 e 2 rispetto al controllo, mentre tra i campioni con latte in polvere l'1 è quello con un valore minore. Anche l' a_w segue il trend dell'umidità e dalla figura 57 si nota come il campione 1 abbia valori significativamente inferiori. I campioni sono stati sottoposti a tempi di cottura differenti per ottenere un valore di umidità iniziale degli

amaretti simile tra tutte le tesi. In pratica i campioni 1 e 2 sono stati cotti un tempo inferiore rispetto al controllo, semplicemente perché avendo un contenuto inferiore di acqua già nell'impasto, durante la fase di cottura ne è stata allontanata di meno. A seguito del raffreddamento sono stati confezionati in pellicola di alluminio. La conservazione è stata eseguita in cella termostata alla temperatura di 20°C. Le analisi di a_w , umidità e di puncture test sono state effettuate a 1, 7, 14, 21 e 30 giorni dalla produzione.

Anche in questo caso le analisi di a_w e di umidità sono state eseguite sia sulla parte superficiale che sulla parte interna degli amaretti.

Come già visto nei lavori precedenti i valori di acqua libera hanno la tendenza a crescere nel corso della sperimentazione. La parte interna ha valori sempre più alti rispetto alla crosta e il campione di controllo ha valori sempre superiori rispetto alle altre due tesi. I campioni 1 e 2 invece hanno valori di a_w simili durante la sperimentazione. Al termine dei 30 giorni i prodotti che contenevano il latte in polvere mostravano valori medi di 0,74, mentre il controllo si attestava intorno allo 0,77, una differenza rilevante alla luce di un possibile sviluppo microbico.

I valori di umidità hanno un andamento diverso tra il controllo e i campioni con latte in polvere: il primo inizialmente si idrata per disidratarsi e tornare ai valori iniziali all'ultimo tempo di analisi, i secondi perdono umidità nella prima settimana, ma successivamente si idratano ed il valore ai 30 giorni di sperimentazione è di un punto percentuale superiore al giorno di produzione.

Questo comportamento ha ripercussioni sulla struttura (Fig. 58) ovvero inizialmente il controllo ha valori di durezza della parte interna più bassi rispetto ai campioni con latte in polvere, in seguito i valori crescono sino ad essere simili tra tutte tre le tesi in corrispondenza della disidratazione del controllo. Questo sta a dimostrare che la quantità d'acqua presente nel prodotto finito è correlata con la consistenza del prodotto.

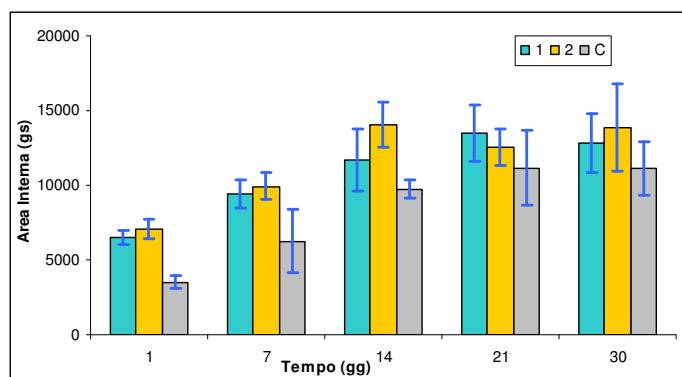


Figura 58- Variazione della struttura in funzione del tempo

In conclusione i campioni che hanno risposto meglio alle richieste iniziali sono stati quelli con il latte in polvere che hanno valori inferiori di a_w , non hanno fenomeni di idratazione evidenti ed una consistenza simile al controllo almeno sul lungo periodo. Tra le tesi 1 e 2 è stata preferita la prima in quanto a pari valori di umidità ha un contenuto di acqua libera inferiore.

Prove di produzione con l'impiego di latte e siero di latte in polvere

Con questa prova si è voluto valutare due diverse concentrazioni di latte in polvere (Alim 45) ed inoltre è stato impiegato un secondo umettante (siero di latte in polvere – Alim 15) con lo scopo di migliorare gli effetti sulla consistenza del prodotto finito. In fase di preparazione è stato fatto tesoro dei risultati delle prove precedenti, perciò l'albume è stato montato a neve, con un tempo di sbattitura di 10 minuti, infine gli umettanti sono stati aggiunti dopo 7 minuti di impasto ed omogeneizzati per altri 3 minuti. In figura 59 sono elencate le concentrazioni degli ingredienti per ciascuna tesi.

Figura 59- Ingredienti delle diverse tesi

Ingredienti	A	B	C	D
Zucchero	40%	38%	39%	38%
Mandorle	40%	38%	39%	38%
Albume	20%	19%	20%	19%
Alim 45		5%	2%	
Alim 15				5%

Sugli impasti sono state effettuate analisi di a_w e di umidità. La figura 60 mostra le differenze di contenuto umido tra le tesi: il campione A (controllo) ha il valore più alto, mentre più aumenta la concentrazione di umettante minore è il valore di umidità. Il valore del campione con siero in polvere è più basso anche del campione B. I valori di a_w presentano lo stesso comportamento visto in precedenza, il campione D ha i valori più bassi.

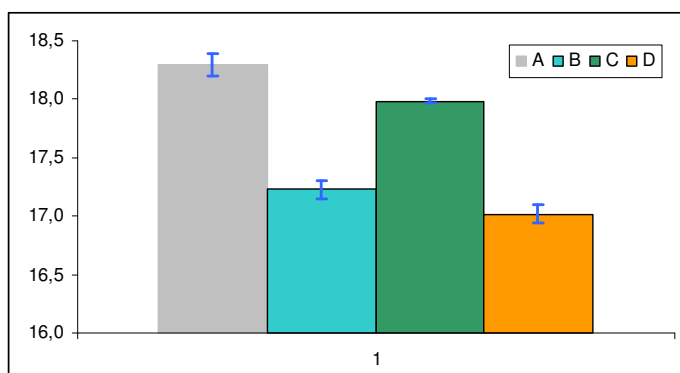


Figura 60 - Variazione del contenuto umido

I campioni sono stati sottoposti a tempi di cottura differenti per ottenere un valore di umidità iniziale degli amaretti simile in tutte le tesi. La figura 61 mostra i valori di umidità iniziali, simili per tutti i campioni ad eccezione del C che ha un valore inferiore.

Figura 61-umidita dei campioni

Campione	Umidità %	Dev.St
A	9,05	±0,315
B	8,87	±0,023
C	8,40	±0,086
D	8,96	±0,181

A seguito della fase di raffreddamento gli amaretti sono stati confezionati in pellicola di alluminio. La conservazione è stata eseguita in cella termostata alla temperatura di 20°C. Le analisi di a_w , umidità e di puncture test sono state effettuate a 1, 7, 14, 21 e 30 giorni dalla produzione.

Le misure di a_w effettuate sui quattro campioni mostrano un incremento di questo valore nel tempo. Al primo tempo di analisi si registra il seguente andamento: il campione A ha il valore più alto di acqua libera, seguito da entrambe i campioni con latte in polvere (che hanno valori simili ma concentrazioni diverse di Alim 45), il campione D ha il valore inferiore e lo mantiene per tutta la sperimentazione.

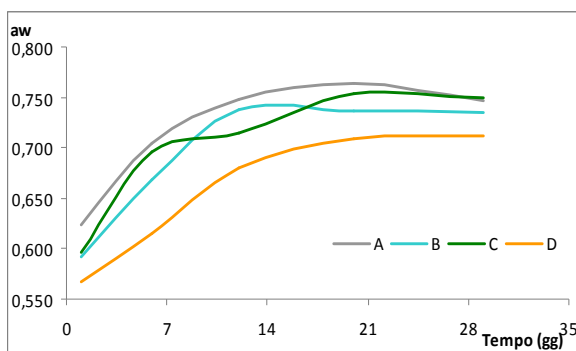


Figura 62-variazione dell'Aw in funzione del tempo

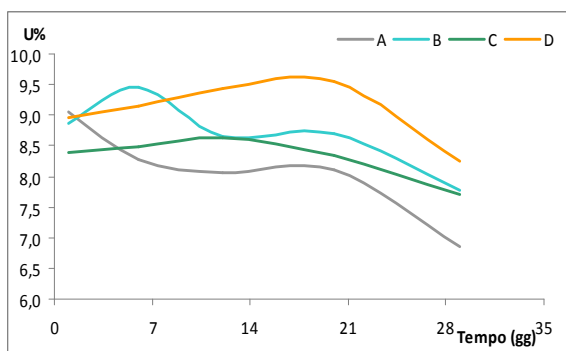


Figura 63- Variazione dell'UR% in funzione del tempo

Per quanto riguarda l'umidità i campioni B, C e D subiscono inizialmente un'idratazione (più prolungata nel tempo nel campione D) seguita da disidratazione, mentre il campione A si disidrata già nei primi tempi di analisi. Tutti i campioni nel corso della sperimentazione sono soggetti a perdita di acqua: il campione che risente di più di questo fenomeno è il campione A che perde il 2,2% di umidità, mentre i campioni C e D perdono solo lo 0,7%. Il campione C dal 14^{mo} giorno di analisi ha valori simili al B che perde complessivamente l'1,1% di umidità. Alla luce dei dati di umidità hanno maggior valore le differenze nel quantitativo di acqua libera tra i campioni B, C e D ed il controllo. E' noto infatti che maggiore è il valore di umidità e maggiore è quello di a_w , in questo caso invece i campioni addizionati di latte e siero di latte in polvere hanno valori di umidità più alti del controllo ma valori di a_w inferiori. Questo dimostra ulteriormente come questi prodotti siano efficaci nel legare chimicamente l'acqua nella matrice del prodotto.

Per quanto riguarda le analisi di struttura in figura 64 è stato riportato l'incremento nel tempo della durezza nella parte interna, calcolato in percentuale sul valore iniziale. Si nota subito che il maggior incremento si è avuto nel campione A e il minore nel campione D. Nei campioni A, B e C l'incremento maggiore si verifica nella prima settimana, e nell'ultima nel campione D. Da notare che l'incremento totale di durezza nella parte interna del campione D è pari alla metà di quello che il campione A ha avuto durante la prima settimana.

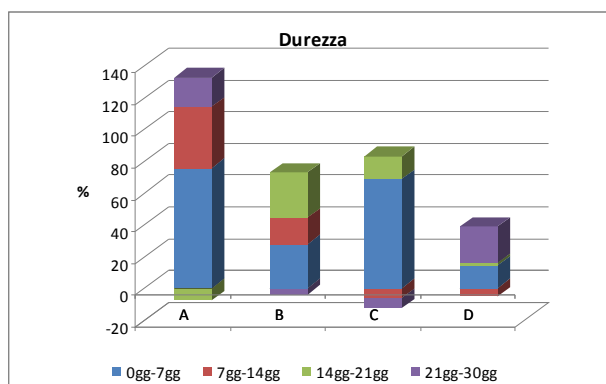


Figura 64 – Incremento della durezza nel tempo calcolata per le diverse tesi di amaretti (A, B, C, D).

In conclusione si può affermare che i campioni ai quali è stato aggiunto siero e latte in polvere hanno migliorato la qualità degli amaretti. Come si è visto, si è riusciti nell'intento di associare una minore quantità di acqua libera ad un minor indurimento del dolce. Tra i campioni con latte in polvere si ha avuto un risultato migliore con una concentrazione più alta di umettante. I prodotti preparati con siero di latte in polvere come si è visto hanno ottenuto i risultati migliori dal punto di vista di una riduzione dei valori di acqua libera e di una migliore consistenza.

Prova di produzione su scala industriale con l'impiego di siero di latte in polvere

Alla luce dei risultati ottenuti nelle prove con latte e siero di latte in polvere, è stato stabilito di effettuare una prova su scala industriale utilizzando siero di latte ovino in polvere (nome commerciale Alim 15), e di procedere allo studio della shelf life in un arco di tempo più lungo rispetto a quello precedente.

In alcune aziende sono stati preparati due tipologie di amaretti: campione CON (controllo) e campione A15 (5% di siero di latte ovino in polvere). Anche in questo caso le due tesi hanno avuto tempi di cottura differenti: i campioni CON sono stati cotti a 200°C per 10 minuti, mentre gli A15 per 8 minuti alla stessa temperatura. I prodotti sono stati confezionati singolarmente (monodose) con un film a bassa permeabilità al vapore d'acqua ($WVTR < 5$).

Sono state effettuate analisi di a_w e umidità, di colore e punture test. Sono state inoltre costruite le isoterme di assorbimento/desorbimento, allo scopo di determinare, attraverso la modellazione matematica, le condizioni ottimali di confezionamento (caratteristiche del film di confezionamento e dell'alimento). Infine sono state effettuate analisi sensoriali per valutare eventuali differenze tra le tesi. Le analisi sono state condotte a cadenza quindicinale dal giorno di produzione fino ai 120 giorni.

Dopo la cottura i campioni A15 erano mediamente più scuri rispetto al controllo, come dimostrano anche le determinazioni di colore. Il parametro preso in considerazione è detto L (chiarezza), ha una scala di valori compresa tra 1 e 100, e descrive quanto il colore di un campione si avvicini o meno al colore nero (valori più bassi) o al colore bianco (valori più alti). Le analisi mostrano valori inferiori per A15 (61,83) rispetto a CON (64,14). L'imbrunimento che subiscono i prodotti da forno in fase di cottura è dovuto alla cosiddetta reazione di Maillard, che è influenzata dalla distribuzione dell'acqua e dalla reazione di zuccheri riducenti e amminoacidi (Kent & Evers 1994). Anche Gallagher et al. (2003) descrivono un imbrunimento più marcato in un pane prodotto con siero in polvere rispetto al controllo.

La figura 65 mostra l'evoluzione del valore di a_w nel corso della sperimentazione. Entrambe le tesi incrementano il loro valore fino al raggiungimento di un valore massimo che rimarrà stabile durante la sperimentazione. Questo comportamento è dovuto al fenomeno della cristallizzazione del saccarosio dove si ha liberazione di acqua nella matrice del prodotto. Tra le due tesi i valori di a_w sono significativamente differenti durante tutta la sperimentazione. Al primo tempo di analisi si notano le prime differenze: i campioni CON hanno valori medi di 0,662, mentre A15 di 0,636. Il campione CON raggiunge il valore massimo più velocemente del A15 in quanto "il processo di liberazione di acqua" è avvenuto più

velocemente. Il campione CON raggiunge il *plateau* con 0,79 ai 30 giorni, mentre A15 arriva a 0,76 ai 50 giorni.

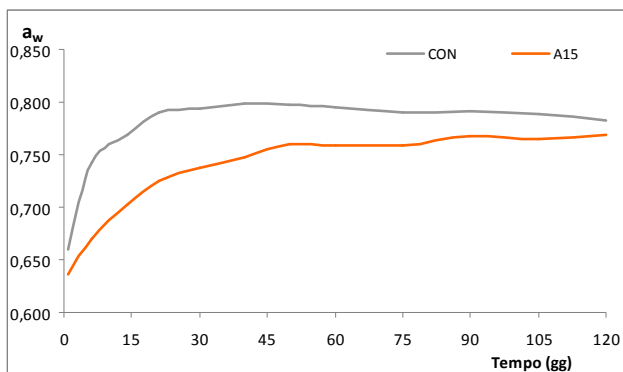


Figura 65- Variazione dell'Aw in funzione del tempo

Per quanto riguarda l'umidità, entrambe i campioni hanno valori iniziali statisticamente simili (CON 9,83%, A15 10,15%). Nel corso della sperimentazione i valori tendono a decrescere, ma in modo diverso. Per CON si registra a 120 giorni una perdita pari a 2,5% di umidità, mentre A15 perde lo 0,9%. Per quest'ultimo campione i valori sono statisticamente simili tra il giorno di produzione ed il 45mo giorno di analisi. Le differenze nei valori tra le due tesi e la diversa cinetica delle curva sono dovute alle *water-binding properties* del siero di latte in polvere ed alla presenza di lattosio che riescono a contenere il fenomeno della disidratazione.

Per le analisi di puncture test i parametri presi in considerazione sono stati la durezza della parte interna e di quella superficiale. Per entrambe le tesi si è avuto un incremento della durezza, ma valori maggiori si registrano nel campione CON (figura 66). In particolare i dati rimangono simili tra le tesi sino al 15^{mo} giorno, per poi crescere ma con una cinetica differente. I campioni A15 mantengono valori di durezza della parte interna simili dal 15^{mo} giorno sino al 60^{mo}, mentre il CON indurisce progressivamente. Di particolare rilievo il fatto che i valori di durezza che A15 presenta ai 120 giorni sono statisticamente simili a quelli di CON registrati a 45 giorni. Infine, come si nota dalle barre di errore nella figura 10, i dati CON hanno una deviazione standard maggiore rispetto ad A15, questo mostra come i prodotti senza siero di latte in polvere siano meno omogenei.

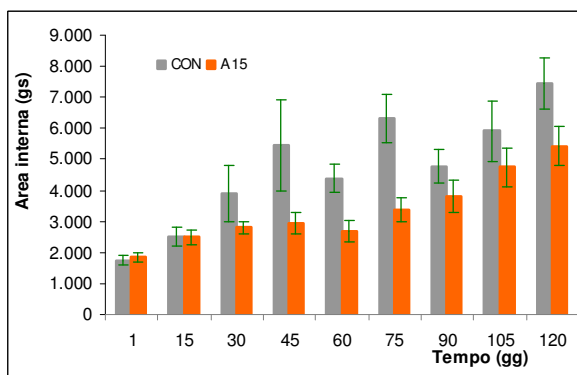


Figura 66 - Puncture test

Per quanto riguarda la durezza della crosta non vi sono differenze vistose tra le tesi, ovvero nonostante l'interno di A15 risulti più morbido e nel tempo trattienga un maggior quantitativo di acqua, la croccantezza della crosta rimane simile al campione CON. Infine le analisi statistiche dei valori di struttura e di umidità mostrano una forte correlazione tra questi parametri e soprattutto la minore disidratazione di A15 dovuta alla presenza del siero di latte in polvere si traduce in una migliore consistenza.

I punti sperimentali ottenuti con la tecnica delle isoterme, sono stati interpolati con l'equazione G.A.B., ottenendo le curve mostrate in figura 67, in quando è stato registrato il minor errore relativo percentuale.

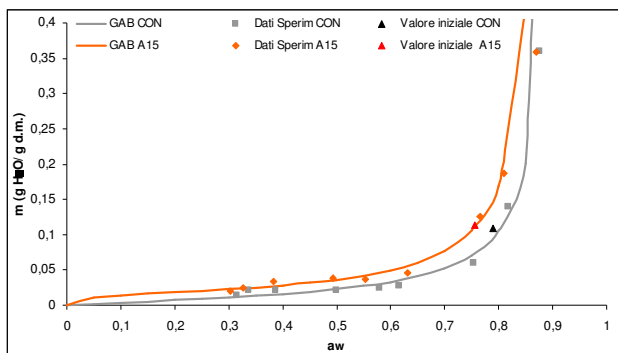


Figura 67 – Equazione G.A.B.

La figura 67 mostra come le curve ottenute dall'interpolazione dei dati sperimentali hanno un andamento caratteristico dei prodotti con alte concentrazioni di zucchero. Nella prima parte della curva (dove il campione si disidrata), fino a valori di a_w pari a 0,65, non si registrano differenze statistiche tra le due tesi, mentre nella seconda parte della curva (il campione si idrata) si nota come per uguali valori di umidità, il campione A15 ha una a_w inferiore. I fenomeni di disidratazione e di idratazione sono dovuti rispettivamente dal passaggio di acqua dalla matrice del prodotto verso l'ambiente e viceversa. I migliori risultati ottenuti dal campione A15 sono frutto di una minore mobilità dell'acqua e di una migliore distribuzione della stessa all'interno del dolce.

Con l'impiego dell'equazione dell'isoterma (G.A.B.) ottenuta si possono calcolare tre parametri: il contenuto umido iniziale, critico e all'equilibrio, necessari alla definizione delle shelf life e delle migliori condizioni del sistema prodotto/confezione /ambiente. Questi parametri vengono inseriti in una equazione che oltre alle caratteristiche intrinseche del prodotto (contenuto umido e peso secco) prende in considerazione anche quelle della confezione (spessore e superficie in m^2 , permeabilità al vapor d'acqua del film) e dell'ambiente (temperatura e pressione del vapore acqueo all'interno e dall'esterno della confezione). Per la definizione della shelf life del prodotto occorre considerare le seguenti condizioni sperimentali per le due tesi:

- pari umidità (contenuto umido) iniziale e critico
- pari condizioni ambientali (temperatura 20°C, pressione del vapor d'acqua)
- pari condizioni di confezionamento (stessa superficie della confezione, velocità di trasmissione del vapor d'acqua o WVTR)

Con la metodica definita della "linearizzazione della curva dell'isoterma" si può stimare che la *shelf life* del prodotto A15 è pari al doppio di quella del campione CON, questo è dovuto alla minore propensione del prodotto A15 alla disidratazione.

E' stato eseguito un test triangolare (AACC Method 33-50A), che viene effettuato su tre campioni anonimi, di cui due uguali, dove i panelist, devono distinguere quale è il campione diverso. La prova è stata ripetuta ad 1 ed a 30 giorni dalla produzione, per verificare se esisteva una corrispondenza tra le analisi di struttura ed il responso del test sensoriale. Dalla rielaborazione dei dati del test si evidenzia come i prodotti sono simili al tempo 0, mentre risultano essere differenti a 30 giorni, soprattutto a causa di un maggior indurimento degli amaretti CON riscontrato dai panelist. I dati quindi confermano l'analisi dei risultati di struttura che mostrano come le misure di durezza dell'area interna hanno valori simili tra le due tesi al tempo zero, mentre ai 30 giorni il campione CON subisce un indurimento più marcato.

In conclusione si può affermare come l'intervento effettuato sulla formulazione dei prodotti abbia migliorato la qualità degli amaretti. Il siero di latte in polvere grazie alle sue caratteristiche riduce i fenomeni di disidratazione, limita il fenomeno dell'indurimento, consente un incremento dell'alta qualità e della shelf life dei dolci.

FORMAGGIO DI CAPRA

Al progetto hanno aderito 3 aziende, di seguito si riporta il risultato dell'intervista telefonica.

- Il Caseificio artigiano di Quartu S.E. produce mozzarella da latte bovino. L'azienda vorrebbe estendere la shelf life del proprio prodotto. Dopo una prima intervista telefonica non è stato possibile ottenere ulteriori informazioni dall'azienda, che non ha fornito le schede dei prodotti e non si è messa in contatto con i ricercatori della Porto Conte Ricerche.
- L'azienda Ghironi di Sassari, al momento dell'intervista non aveva ancora avviato la produzione. Partecipa al programma soprattutto per trovare soluzioni migliori nella scelta dei macchinari per il confezionamento e nella gestione dei processi. I ricercatori della Porto Conte Ricerche hanno dato la loro disponibilità ad incontrarli per discutere di tali aspetti.
- L'azienda Galydhà ha inviato le schede relative a 7 prodotti, tra questi erano presenti 2 diverse tipologie di latte UHT, 2 lattini fermentati e 3 formaggi freschi.

Durante la visita aziendale presso lo stabilimento Galydhà è stato stabilito di focalizzare l'attenzione sullo stracchino, un formaggio fresco da latte di capra, ancora in fase di sperimentazione e non ancora commercializzato. Il formaggio, dopo una prima fase di maturazione a 9°C, viene confezionato incartandolo con un foglio di carta ed esternamente con un film plastico, quindi viene posto in un vassoio di polistirolo che ne contiene 4 pezzi. Il prodotto mantenuto a temperatura di 4°C ha una shelf life di 25 giorni. La problematica è data dallo sviluppo di microrganismi sulla superficie del formaggio, probabilmente lieviti e batteri, che spesso si ritrovano prima della data di scadenza.

Obiettivo della prima parte del lavoro era quello di verificare la presenza di microrganismi sulla superficie del formaggio, definire le classi microbiche presenti e valutare il loro numero. Inoltre, su un ristretto numero di campioni, sono state condotte delle prove di confezionamento in atmosfera protettiva e con l'impiego di un gel di chitosano, con l'obiettivo di valutare l'effetto della concentrazione di CO₂ sulle caratteristiche sensoriali del prodotto e mettere a punto la tecnologia di confezionamento con chitosano.

A tale scopo sono stati prelevati in azienda dei campioni di formaggio sui quali sono state effettuate analisi microbiologiche subito dopo il confezionamento, il prodotto mantenuto a 4°C è stato analizzato anche dopo 20 giorni. Alcuni campioni di formaggio sono stati confezionati in vaschetta, chiusa con un film plastico impermeabile ai gas, utilizzando due differenti miscele di gas, la prima contenente 50% di CO₂ e 50% di azoto, la seconda 80% di CO₂ e 20% di azoto. Sono state inoltre effettuate delle prove di rivestimento del formaggio con un gel di chitosano. Il chitosano è un polisaccaride di origine naturale avente azione antimicrobica, è stato preparato miscelandolo al 2% in una soluzione di acido acetico (1% in acqua). Il formaggio è stato immerso nella soluzione e posto ad asciugare a 4°C, quindi rivestito con l'incarto originale e lasciato a 4°C.

Risultati. Le analisi microbiologiche (figura 68) hanno evidenziato la presenza di batteri appartenenti al genere *Pseudomonas* fin dal primo tempo di analisi, mentre le colonie microbiche sono visibili a occhio nudo solo dopo il 20mo giorno. Lo sviluppo di questo microrganismo in un alimento provoca sapori e odori sgradevoli.

Al tempo 0 non sono si ritrovano lieviti e muffe, che però si ritrovano ai 20 giorni, soprattutto nei campioni manipolati, la cui confezione è stata aperta e poi richiusa (formaggio scartato). Le colonie microbiche sono visibili a occhio nudo solo dopo il 20mo giorno. La carica microbica è aumentata soprattutto nei campioni di formaggio trattati con chitosano, ciò era dovuto alla manipolazione effettuata durante la preparazione dei campioni, infatti anche i campioni la cui confezione era stata rimossa (formaggio scartato) mostravano un aumento della carica microbica.

Figura 68 – Conte microbiche sul formaggio stracchino (ufc/gr).

	Tempo	CMT	Pseudomonas	Lieviti e Muffe
Formaggio - Superficie	0 gg	$1,65 \times 10^5$	$9,18 \times 10^4$	0
Formaggio - Totale	0 gg	$5,00 \times 10^4$	$9,82 \times 10^3$	0
Formaggio - Superficie	20 gg	$5,00 \times 10^4$	$5,00 \times 10^2$	0
Formaggio Totale	20 gg	$1,14 \times 10^5$	$1,31 \times 10^5$	$1,77 \times 10^3$
Formaggio + Chitosano - Superficie	0 gg	$8,64 \times 10^4$	$1,32 \times 10^4$	0
Formaggio + Chitosano - Totale	0 gg	$2,86 \times 10^5$	$1,39 \times 10^4$	$1,36 \times 10^2$
Formaggio + Chitosano - Superficie	20 gg	$8,10 \times 10^7$	$3,00 \times 10^7$	$2,00 \times 10^4$
Formaggio + Chitosano - Totale	20 gg	$5,13 \times 10^6$	$3,88 \times 10^6$	
Formaggio scartato - Superficie	20 gg	$4,07 \times 10^6$	$2,37 \times 10^6$	$7,65 \times 10^3$
Formaggio scartato - Totale	20 gg	$1,09 \times 10^5$	$6,09 \times 10^4$	$8,13 \times 10^4$

Sui formaggi confezionati in atmosfera protettiva è stato condotto un test di analisi sensoriale, da parte dei ricercatori che hanno lavorato al progetto. Il test ha messo in evidenza che il formaggio confezionato con 80% di CO₂ aveva un sapore amaro con una sensazione sgradevole di frizzante, nel prodotto con il 50% di CO₂ sia l'amaro che il frizzante erano meno accentuati. Il sapore amaro era dovuto alla CO₂ che si scioglie nella matrice acquosa del formaggio.

Prove di confezionamento e studio della shelf life del formaggio stracchino

Obiettivo del lavoro era quello di mettere a punto una tecnologia di confezionamento idonea a prolungare la shelf life del formaggio stracchino prodotto con latte di capra. Sono state effettuate prove di confezionamento utilizzando tecnologie tradizionali, quali quella dell'atmosfera protettiva, e tecnologie innovative, con l'impiego di assorbitori di ossigeno e rivestimento edibile con chitosano. Le tesi sperimentali erano le seguenti:

1. Formaggio stracchino confezionato in azienda con l'incarto (tesi di controllo).
2. Formaggio stracchino confezionato in atmosfera protettiva (MAP) con 30% CO₂ e 70% N₂.
3. Formaggio stracchino confezionato in atmosfera protettiva (MAP) con 50% CO₂ e 50% N₂.
4. Formaggio stracchino rivestito di chitosano (Edible Coating), confezionato con l'incarto aziendale.
5. Formaggio stracchino confezionato in vaschetta con assorbitori di ossigeno.

I campioni di formaggio sono stati prelevati in azienda, confezionati secondo la tecnologia utilizzata dall'azienda, cioè un foglio di carta all'interno ed uno plastificato all'esterno, quindi sono stati processati nei laboratori della Porto Conte Ricerche. I campioni sono stati conservati a 4°C per tutta la durata della sperimentazione. I campioni in MAP e quelli con gli assorbitori di ossigeno sono stati posizionati con gli incarti originali all'interno di vaschette in polistirolo espanso estruso, laminato con film multistrato barriera ai gas. Le vaschette sono state sigillate con un film barriera laminato (CxTop 64, CoopBox Italia) a base EVOH con strato esterno PET, strato interno saldante a base PE trattato AntiFog.

Il rivestimento con chitosano è stato effettuato immergendo il formaggio in una soluzione di chitosano, preparata sciogliendo il 4% di chitosano in una soluzione di acido acetico all'1%. Il formaggio è stato quindi lasciato ad asciugare in un incubatore refrigerato a 4°C per 2 ore circa, quindi è stato incartato con l'incarto originale e conservato a 4°C.

I campioni sono stati analizzati subito dopo il confezionamento e a 15, 30, 40 e 50 giorni di conservazione. Sono state eseguite analisi microbiologiche per la conta microbica totale su PCA, per la ricerca di

Pseudomonas su PAB, lieviti e muffe su RB, coliformi totali su VRBA, batteri lattici su MRS, micrococchi e stafilococchi su MSA. Le analisi microbiologiche sono state eseguite prelevando una fetta di circa 50 gr di formaggio da due forme, omogeneizzando il campione e prelevandone 10 grammi per effettuare le diluizioni seriali.

Sui formaggi sono state eseguite analisi per la determinazione di attività dell'acqua (A_w), pH (metodo potenziometrico), umidità (RH%), grasso, azoto totale e solubile (metodo Kjeldahl), struttura, caratteristiche sensoriali. Le analisi di struttura sono state eseguite con la metodica del *Puncture test*, effettuando tre ripetizioni su due diverse forme. Le analisi sensoriali sono state eseguite dopo 20 e 40 giorni di conservazione, utilizzando un metodo di preferenza per ordinamento (ISO/WD8587, 2001). I gas presenti all'interno delle vaschette sono stati analizzati con uno strumento CombiCheck 9800-1 (PBI-Dansensor).

RISULTATI

Caratteristiche del formaggio prima del confezionamento.

Le analisi effettuate sul formaggio prima del confezionamento hanno evidenziato un valore di a_w pari a 0,981, una umidità del 59,5%, un pH di 5,05, una percentuale di grasso del 24,2 %.

Analisi microbiologiche.

Il campione di controllo è stato analizzato sino ai 30 giorni di conservazione, dalla figura 69 si nota l'alto numero di *Pseudomonas* e di lieviti che erano visibili ad occhio nudo anche sulla superficie del formaggio (figura 70). Gli *Pseudomonas* sono microrganismi proteolitici che provocano sapori e odori sgradevoli, chiaramente percepibili nel formaggio dopo 30 giorni. I lieviti creano problemi di colorazioni anomale sulla superficie del prodotto, come si osserva dalla foto.

Figura 69 – Cariche microbiche nel formaggio di controllo

Tempo	CMT	<i>Pseudomonas</i>	Lieviti e Muffe	Batteri lattici	Coliformi	Micrococchi Satfilococchi
0 gg	$2,03 \times 10^4$	0,00E+00	$9,09 \times 10^1$	$>> 10^6$	4,5	$2,6 \times 10^4$
15 gg	$2,11 \times 10^8$	$5,91 \times 10^2$	$1,33 \times 10^5$	$6,35 \times 10^8$	0,0	$2,96 \times 10^4$
30 gg	$3,64 \times 10^7$	$7,5 \times 10^5$	$1,36 \times 10^6$	$4,09 \times 10^7$	0,0	$5,18 \times 10^5$



Figura 70. Formaggio di controllo dopo 30 giorni di conservazione a 4°C.

Nei formaggi confezionati in MAP, come si osserva dalla figura 71, c'è stato un minor sviluppo della microflora, soprattutto di quella anticasearia, per tale motivo si sono potute effettuare analisi fino ai 50 giorni di conservazione. Subito dopo il confezionamento sono state eseguite le analisi su un campione di controllo allo scopo di verificare eventuali contaminazioni dovute alla manipolazione. Confrontando i dati con quelli del formaggio di controllo si nota che la manipolazione durante il confezionamento ha causato un aumento degli *Pseudomonas*. Durante la conservazione però si può evidenziare una diminuzione nel numero di *Pseudomonas* e lieviti, rispetto al controllo. Se mettiamo a confronto i dati delle due diverse prove si nota che nei campioni in MAP 30:70 vi sia stato un minor sviluppo dei microrganismi anticaseari. L'atmosfera protettiva non ha invece influenzato lo sviluppo di batteri lattici, mentre ha probabilmente controllato uno sviluppo notevole di micrococchi e stafilococchi.

	TEMPO	CMT	<i>Pseudomonas</i>	Lieviti e Muffe	Batteri lattici	Coliformi	Micrococchi Stafilococchi
MAP	0 gg	$2,04 \times 10^4$	$9,09 \times 10^1$	$9,09 \times 10^1$	$>> 10^6$	0,00	$1,99 \times 10^4$
MAP 30:70	15 gg	$1,93 \times 10^8$	0,00	0,00	$2,30 \times 10^8$	4,55	$1,14 \times 10^4$
MAP 50:50	15 gg	$2,33 \times 10^8$	$4,50 \times 10^3$	0,00	$3,40 \times 10^8$	$1,38 \times 10^3$	$2,70 \times 10^4$
MAP 30:70	30 gg	$4,55 \times 10^6$	0,00	$4,55 \times 10^1$	$1,0 \times 10^7$	0,00	$5,27 \times 10^4$
MAP 50:50	30 gg	$1,00 \times 10^6$	0,00	0,00	$9,41 \times 10^8$	0,00	$4,18 \times 10^4$
MAP 30:70	40 gg	$4,55 \times 10^4$	0,00	$4,55 \times 10^1$	$1,08 \times 10^9$	0,00	$7,59 \times 10^4$
MAP 50:50	40 gg	$1,55 \times 10^6$	$1,68 \times 10^3$	0,00	$2,49 \times 10^9$	$2,00 \times 10^3$	$1,02 \times 10^5$
MAP 30:70	50 gg	$1,55 \times 10^5$	0,00	0,00	$2,60 \times 10^8$	0,00	$9,05 \times 10^4$
MAP 50:50	50 gg	$2,23 \times 10^5$	0,00	0,00	$5,37 \times 10^8$	$1,27 \times 10^2$	$4,41 \times 10^4$

Figura 71 – Cariche microbiche nel formaggio confezionato in MAP

La manipolazione dei formaggi rivestiti con il chitosano non ha provocato un aumento nel numero di microrganismi. Il chitosano però non è stato in grado di controllare lo sviluppo microbico, infatti dalla figura 72 si nota l'alto valore a 30 giorni nel numero sia di *Pseudomonas* che lieviti che hanno provocato lo scadimento qualitativo del prodotto e l'interruzione della prova. Anche in questi formaggi le colonie microbiche erano visibili ad occhio nudo e si percepiva l'odore dovuto allo sviluppo di *Pseudomonas*. Nel formaggio confezionato con assorbitori di ossigeno (fig. 73) vi è stato una diminuzione delle cariche microbiche fino a 50 giorni di conservazione, soprattutto per quanto riguarda *Pseudomonas* e lieviti.

TEMPO	CMT	Pseudomonas	Lieviti e Muffe	Batteri lattici	Coliformi	Micrococchi Stafilococchi
0 gg	1,48x10 ⁴	0,00	0,00	>>10 ⁶	0,00	1,23x10 ⁴
15 gg	8,00x10 ⁸	0,00	3,54x10 ⁴	9,95x10 ⁸	1,82x10 ¹	4,92x10 ⁴
30 gg	7,98x10 ⁸	4,51x10 ⁴	4,00x10 ⁵	8,75x10 ⁸	0,00	2,05x10 ⁵

Figura 72 – Cariche microbiche nel formaggio confezionato con un edibile coating di chitosano.

TEMPO	CMT	Pseudomonas	Lieviti e Muffe	Batteri lattici	Coliformi	Micrococchi Stafilococchi
15 gg	6,00x10 ⁸	9,55x10 ²	1,20x10 ⁵	5,05x10 ⁸	2,73x10 ¹	4,91x10 ⁴
30 gg	9,09x10 ⁶	2,23x10 ³	2,64x10 ⁵	7,05x10 ⁸	4,55	1,13x10 ⁵
50 gg	9,55x10 ⁴	0,00	5,91x10 ²	6,36x10 ⁸	0,00	6,92x10 ⁴

Figura 73– Cariche microbiche nel formaggio confezionato con assorbitori di ossigeno.

Analisi dei gas

Dai dati in figura 74 si nota che nelle due tesi confezionate atmosfera protettiva vi è stata una diminuzione abbastanza modesta della CO₂, considerata normale in quanto la CO₂ si solubilizza nella frazione liquida del formaggio. Nel campione con gli assorbitori di ossigeno (figura 75) il valore dell'ossigeno si mantiene relativamente alto ai 15 giorni mentre scompare intorno ai 30 giorni. Da notare che il confezionamento MAP ha consentito di eliminare quasi completamente l'ossigeno fin dai primi giorni di conservazione.

Tempo	MAP 30:70			MAP 50:50			ASS		
	O ₂	CO ₂	N ₂	O ₂	CO ₂	N ₂	O ₂	CO ₂	N ₂
15 gg	0,06	30,45	69,49	0,07	46,45	53,48	2,36	0,35	97,29
30 gg	0,08	28,40	71,52	0,08	48,05	51,87	0,02	0,00	99,98
40 gg	0,10	27,95	71,96	0,10	47,20	52,70			
50 gg	0,09	32,65	67,27	0,08	46,50	53,43			

Figura 74 – Valori della concentrazione di gas nelle vaschette confezionate in MAP e con assorbitori di ossigeno.



Figura 75 – Confezionamento del formaggio con gli assorbitori di ossigeno.

Analisi sensoriali

Dopo 20 giorni di conservazione i formaggi appartenenti a 4 diverse tesi, controllo, MAP 30:70, chitosano ed edibile coating, sono stati sottoposti ad analisi sensoriale. È quindi stato escluso il campione in MAP 50:50 a causa dell'impossibilità di analizzare 5 campioni contemporaneamente. Il formaggio è stato sottoposto al giudizio di 32 assaggiatori non addestrati. I risultati dell'analisi indicano che il campione preferito è quello conservato in MAP 30:70, significativo con una probabilità del 95%. Il prodotto è stato quindi preferito rispetto a quello di controllo. Le analisi sono state ripetute a circa 40 giorni solo sui campioni conservati in MAP, poiché non era più possibile analizzare gli altri campioni. I formaggi sono stati sottoposti al giudizio di 50 assaggiatori non addestrati. I risultati indicano che il campione 50:50 è stato preferito rispetto a quello 30:70, significativo con una probabilità del 95%. Dalle risposte fornite emerge che il campione veniva preferito soprattutto per il gusto, che risultava più acidulo e fresco rispetto all'altro campione.

Analisi di struttura

Nella figura 76 sono riportati i risultati dell'analisi di struttura del formaggio, espressi come forza massima necessaria a penetrare il formaggio durante il *puncture test* (figura 77). Confrontando i diversi campioni si nota che solo nel caso del Chitosano si ha un ammorbidimento a 15 e 22 giorni, mentre non è possibile evidenziare differenze tra gli altri campioni. Osservando l'andamento della forza nel tempo, per ogni singolo campione, si nota che non si ha un andamento lineare del fenomeno, ma esiste una variabilità molto elevata. La variabilità, indicata dai valori di deviazione standard riportati tra parentesi, è elevata anche nello stesso tempo d'analisi, indice di una proteolisi del formaggio poco omogenea, sia all'interno della stessa forma che tra forme diverse.

	MAP30	MAP50	Assorbitori	Chitosano	Controllo
0gg	285 (±59)	285 (±59)	285 (±59)	285 (±59)	285 (±59)
15gg	224 (±51)	252 (±39)	324 (±69)	201 (±80)	187 (±46)
30gg	368 (±59)	188 (±64)	210 (±71)	196 (±29)	235 (±26)
40gg	218 (±37)	295 (±50)			
50 gg	326 (±49)	235 (±91)	260 (±56)		

Figura 76 – Analisi di struttura. Valori della forza massima (in grammi) necessaria a penetrare il formaggio.

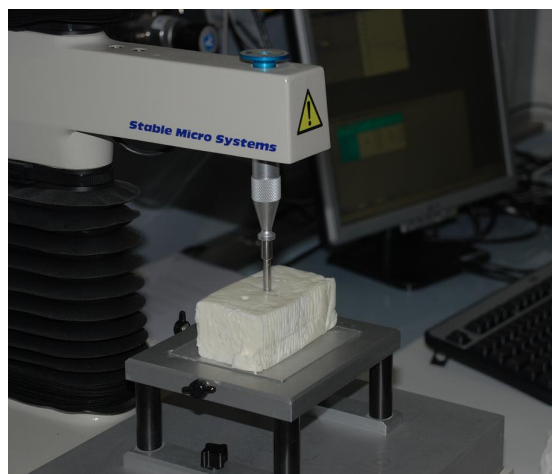


Figura 77 – Particolare dell'analisi al dinamometro eseguita sul formaggio